



ΕΦΗΜΕΡΙΣ ΤΗΣ ΚΥΒΕΡΝΗΣΕΩΣ

ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑΣ

ΤΕΥΧΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ **Αρ. Φύλλου 605**

6 Μαΐου 2005

ΑΠΟΦΑΣΕΙΣ

Αριθ. 558/2004

Τροποποίηση της υπ' αριθμ. απόφασης Α.Χ.Σ. Νο 378/94, (Φ.Ε.Κ. 705/Β'/20.9.1994) σε εναρμόνιση προς την Οδηγία 2004/73/ΕΚ (ΕΕ L 152 της 30.4.2004) της Επιτροπής της Ευρωπαϊκής Κοινότητας «σχετικά με την προσαρμογή στην τεχνική πρόοδο, για εικοστή ένατη φορά της Οδηγίας 67/548/ΕΟΚ του Συμβουλίου περί προσεγγίσεως των νομοθετικών, κανονιστικών και διοικητικών διατάξεων που αφορούν την ταξινόμηση, συσκευασία και επισήμανση των επικίνδυνων ουσιών», το διορθωτικό της Οδηγίας 2004/73/ΕΚ (ΕΕ L 216 της 16.6.2004) και το διορθωτικό του διορθωτικού της Οδηγίας 2004/73/ΕΚ (ΕΕ L 236 της 7.7.2004).

Ο ΥΠΟΥΡΓΟΣ ΚΑΙ Ο ΥΦΥΠΟΥΡΓΟΣ ΟΙΚΟΝΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΩΝ

Έχοντας υπόψη:

1. Το έγγραφο της Διεύθυνσης Περιβάλλοντος του Γενικού Χημείου του Κράτους υπ' αριθμ. 3021707/3839/2004.

2. Τις διατάξεις του άρθρου 1 (παρ. 1, 2 και 3) του ν. 1338/1983 «Εφαρμογή του Κοινοτικού Δικαίου» (Φ.Ε.Κ. 34/Α/1983) όπως τροποποιήθηκε από το άρθρο 6 του ν. 1440/1984 «Συμμετοχή της Ελλάδος στο Κεφάλαιο, στα αποθεματικά και στις προβλέψεις της Ευρωπαϊκής Τράπεζας Επενδύσεων, στο Κεφάλαιο της Ευρωπαϊκής Κοινότητος Ανθρακος και Χάλυβος και του Οργανισμού Εφοδιασμού ΕΥΡΤΟΜ» (Φ.Ε.Κ. 70/Α/1984) καθώς και το άρθρο 65 του ν. 1892/1990 (Φ.Ε.Κ. 101/Α/1990).

3. Το εδάφιο δ της παρ. 8 του άρθρου 6 του νόμου 4328/1929 (Φ.Ε.Κ. 272/Α/1929) «Περί συστάσεως Γενικού Χημείου του Κράτους», όπως αντικαταστάθηκε από την παράγραφο 6 του άρθρου 11 του νόμου 2343/95, (Φ.Ε.Κ. 211/Α/11.10.1995).

4. Το άρθρο 4 του Διατάγματος της 31ης Οκτωβρίου 1929 «Περί κανονισμού της λειτουργίας και των εργασιών του Ανωτάτου Χημικού Συμβουλίου» (Φ.Ε.Κ. 391/Α/1929).

5. Το άρθρο 1 του νόμου 115/1975 «Περί τροποποιήσεως διατάξεων τινών του ν. 4328/1929» (Φ.Ε.Κ. 172/Α/1975).

6. Τα Π.Δ. 284/1988 και 543/1989 «Οργανισμός του Υπουργείου Οικονομικών» (Φ.Ε.Κ. 128 και 165/Α/1988 και 229/Α/1989).

7. Την υπ' αριθμ. 1078204/927/0006 Α/6.8.1992 απόφαση «Περιορισμός Συλλογικών Οργάνων του Υπουργείου Οικονομικών» των Υπουργών Προεδρίας και Οικονομικών" (Φ.Ε.Κ. 517/Β/1992).

8. Την υπ' αριθμ. 14650/Δ10Ε85/17.3.2004 (Φ.Ε.Κ. 519/Β/17.3.2004) Απόφαση του Πρωθυπουργού και Υπουργού Οικονομίας και Οικονομικών «Καθορισμός αρμοδιοτήτων των Υφυπουργών Οικονομίας και Οικονομικών».

9. Τις διατάξεις του άρθρου 29 Α του ν. 1558/1985 (Φ.Ε.Κ. 137/Α/1985) όπως το άρθρο αυτό προστέθηκε με το άρθρο 27 του ν. 2081/1992 (Φ.Ε.Κ. 154/Α/1992) και αντικαταστάθηκε από το άρθρο 1 παρ. 2α του ν. 2469/1997 (38 Α) και το γεγονός ότι από την παρούσα απόφαση δεν προκαλείται δαπάνη σε βάρος του Κρατικού Προϋπολογισμού, αποφασίζουμε:

Εγκρίνουμε την απόφαση υπ' αριθμ. 558/2004 του Ανωτάτου Χημικού Συμβουλίου η οποία ελήφθη κατά τη συνεδρίαση της 3/2/2005 και η οποία έχει ως εξής:

ΓΕΝΙΚΟ ΧΗΜΕΙΟ ΤΟΥ ΚΡΑΤΟΥΣ

ΑΝΩΤΑΤΟ ΧΗΜΙΚΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ

Εγκρίνουμε την προσαρμογή στην τεχνική πρόοδο των Παραρτημάτων Ι και V της Απόφασης Α.Χ.Σ. 378/1994, (Φ.Ε.Κ. 705/Β'/20.9.1994), όπως έχει τροποποιηθεί και ισχύει, σε εναρμόνιση προς τα άρθρα και τα Παραρτήματα της Οδηγίας 2004/73/ΕΚ και των διορθωτικών της, ως ακολούθως:

Άρθρο 1

Η παρούσα Απόφαση εναρμονίζει την Ελληνική Νομοθεσία προς την Οδηγία 2004/73/ΕΚ (ΕΕ L 152 της 30.4.2004) της Επιτροπής της Ευρωπαϊκής Κοινότητας «σχετικά με την προσαρμογή στην τεχνική πρόοδο, για εικοστή ένατη φορά της Οδηγίας 67 / 548 / ΕΟΚ του Συμβουλίου περί προσεγγίσεως των νομοθετικών, κανονιστικών και διοικητικών διατάξεων που αφορούν την ταξινόμηση, συσκευασία και επισήμανση των επικίνδυνων ουσιών», το διορθωτικό της Οδηγίας 2004/73/ΕΚ (ΕΕ L 216 της 16.6.2004) και το διορθωτικό του διορθωτικού της Οδηγίας 2004/73/ΕΚ (ΕΕ L 236 της 7.7.2004).

Τα Παραρτήματα της Οδηγίας 2004/73/ΕΚ και των διορθωτικών της προσαρμόζουν στην τεχνική πρόοδο τα Παραρτήματα Ι και V της Οδηγίας 67/548/ΕΟΚ (ΕΕ L 196/18.6.1967), όπως έχει τροποποιηθεί και ισχύει και

προς την οποία έχει εναρμονισθεί η Ελληνική Νομοθεσία με την Απόφαση του Α.Χ.Σ. 378/1994, (ΦΕΚ 705/Β'/20.9.1994) «Επικίνδυνες ουσίες, ταξινόμηση, συσκευασία και επισήμανση αυτών σε συμμόρφωση προς την οδηγία του Συμβουλίου των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων 67/548/ΕΟΚ όπως έχει τροποποιηθεί και ισχύει».

Άρθρο 2

Η απόφ. Α.Χ.Σ. 378/1994, (ΦΕΚ 705/Β'/20.9.1994), όπως έχει τροποποιηθεί και ισχύει, με την παρούσα Απόφαση τροποποιείται ως εξής:

1. Το Παράρτημα Ι τροποποιείται ως εξής:

α) Η σημείωση Κ στον πρόλογο αντικαθίσταται από το κείμενο που αναφέρεται στο παράρτημα 1Α της παρούσας Απόφασης.

β) Οι καταχωρήσεις που αντιστοιχούν στις καταχωρήσεις του παραρτήματος 1Β της παρούσας Απόφασης αντικαθίστανται από το κείμενο που αναφέρεται στο εν λόγω παράρτημα.

γ) Οι καταχωρήσεις του Παραρτήματος 1Γ της παρούσας Απόφασης ενσωματώνονται σύμφωνα με τη σειρά των καταχωρίσεων που ορίζονται στο παράρτημα Ι της απόφ. Α.Χ.Σ. 378/1994, (ΦΕΚ 705/Β'/20.9.1994).

δ) Οι καταχωρήσεις με αριθμό καταλόγου 604-050-00-Χ, 607-050-00-8, 607-171-00-6 και 613-130-00-3 διαγράφονται.

ε) Η καταχώρηση με αριθμό καταλόγου 048-002-00-0 αντικαθίσταται από τις καταχωρίσεις με αριθμό καταλόγου 048-002-00-0 και 048-011-00-Χ ως αναφέρονται στο παράρτημα 1Δ της παρούσας Απόφασης.

στ) Η καταχώριση με αριθμό καταλόγου 609-006-00-3 αντικαθίσταται από τις καταχωρίσεις με αριθμούς καταλόγου 609-006-00-3 και 609-065-00-5 ως αναφέρονται στο παράρτημα 1Δ της παρούσας Απόφασης.

ζ) Η καταχώριση με αριθμό καταλόγου 612-039-00-6 αντικαθίσταται από τις καταχωρίσεις με αριθμούς καταλόγου 612-039-006 και 612-207-00-9 ως αναφέρονται στο παράρτημα 1Δ.

2. Το Παράρτημα V τροποποιείται ως εξής:

α) Η δοκιμή που αναφέρεται στο παράρτημα 2Α της παρούσας απόφασης προστίθεται ως κεφάλαιο Α.21.

β) Το κεφάλαιο Β.1δις αντικαθίσταται από το κείμενο που παρατίθεται στο παράρτημα 2Β της παρούσας απόφασης.

γ) Το κεφάλαιο Β.1τρις αντικαθίσταται από το κείμενο που παρατίθεται στο παράρτημα 2Γ της παρούσας απόφασης.

δ) Το κεφάλαιο Β.4 αντικαθίσταται από το κείμενο που παρατίθεται στο παράρτημα 2Δ της παρούσας απόφασης.

ε) Το κεφάλαιο Β.5 αντικαθίσταται από το κείμενο που παρατίθεται στο παράρτημα 2Ε της παρούσας απόφασης.

στ) Το κεφάλαιο Β.31 αντικαθίσταται από το κείμενο που παρατίθεται στο παράρτημα 2ΣΤ της παρούσας απόφασης.

ζ) Το κεφάλαιο Β.35 αντικαθίσταται από το κείμενο που παρατίθεται στο παράρτημα 2Ζ της παρούσας απόφασης.

η) Το κείμενο που παρατίθεται στο παράρτημα 2Η της παρούσας απόφασης προστίθεται ως κεφάλαιο Β.42 και Β.43.

θ) Το κείμενο που παρατίθεται στο παράρτημα 2Θ της παρούσας απόφασης προστίθεται ως κεφάλαια Γ.21 έως Γ.24.

Άρθρο 3

Η παρούσα Απόφαση συνοδεύεται από τα Παραρτήματα 1Α, 1Β, 1Γ, 1Δ, 2Α, 2Β, 2Γ, 2Δ, 2Ε, 2ΣΤ, 2Ζ, 2Η, 2Θ τα οποία αποτελούν αναπόσπαστο μέρος αυτής.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Α

«Σημείωση Κ:

Η ταξινόμηση ως καρκινογόνου ή μεταλλαξιγόνου μιας ουσίας δεν ισχύει αν μπορεί να αποδειχθεί ότι η ουσία περιέχει λιγότερο από 0,1% κ.β. 1,3 βουταδιενίου (Einecs No 203-450-8). Αν η ουσία δεν ταξινομείται ως καρκινογόνος ή μεταλλαξιγόνος, ισχύουν τουλάχιστον οι φράσεις S (2-)9-16. Η σημείωση αυτή ισχύει μόνο για ορισμένα πολύπλοκα παράγωγα πετρελαίου στο παράρτημα Ι».

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
006-005-00-4	thiram δις (διμεθυλο-θειοκαρβαμοϋλ.)-δισουλφίδιο		205-286-2	137-26-8	Xn; R20/22-48/22 Xi; R36/38 R43 N; R50-53	Xn; N R: 20/22-36/38-43-48/22-50/53 S: (2-)26-36/37-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20/22-36/38-43-48/22-50-53 20 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R36/38-43-48/22-50-53 5 % ≤ C < 10 %: Xi, N; R36/38-43-50-53 2,5 % ≤ C < 5 %: N; R43-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: N; R43-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
006-006-01-7	υδροκυάνιο ...%	B	200-821-6	74-90-8	T+; R26/27/28 N; R50-53	T+; N R: 26/27/28-50/53 S: (1/2-)7/9-16-36/37-38-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R26/27/28-50-53 7 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26/27/28-51-53 2,5 % ≤ C < 7 %: T, N; R23/24/25-51-53 1 % ≤ C < 2,5 %: T, N; R23/24/25-52-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/21/22-52-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/21/22	
006-012-00-2	ziram δις(*N,N*-διμεθυλοδιθειοκαρβαμιδικός) ψευδάργυρος		205-288-3	137-30-4	T+; R26 Xn; R22-48/22 Xi; R37-41 R43 N; R50-53	T+; N R: 22-26-37-41-43-48/22-50/53 S: (1/2-)22-26-28-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R22-26-37-41-43-48/22-50-53 20 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26-37-41-43-48/22-50-53 10 % ≤ C < 20 %: T+, N; R26-41-43-48/22-50-53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R26-36-43-50-53 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R23-36-43-50-53 1 % ≤ C < 5 %: T, N; R23-43-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20-50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn, N; R20-51-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R51-53	
006-021-00-1	linuron (ISO) 3-(3,4-διχλωροφαινυλο)-1-μεθοξυ-1-μεθυλουρί	E	206-356-5	330-55-2	Repr. Cat. 2; R61 Repr. Cat. 3; R62 Carc. Cat. 3; R40 Xn; R22-48/22 N; R50-53	T; N R: 61-22-40-48/22-62-50/53 S: 53-45-60-61		
006-044-00-7	isoproturon 3-(4-ισοπροπυλοφαινυλο)-1,1-διμεθυλουρία		251-835-4	34123-59-6	Carc. Cat. 3; R40 N; R50-53	Xn; N R: 40-50/53 S: (2-)36/37-60-61	C ≥ 2,5 %: Xn, N; R40-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn, N; R40-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
006-072-00-X	*N,N*-διπροπυλοθειοκαρβαμιδικό *S*-βενζύλιο		401-730-6	52888-80-9	Xn; R22 R43 N; R51-53	Xn; N R: 22-43-51/53 S: (2-)24-37-61		
006-089-00-2	διοξείδιο του χλωρίου		233-162-8	10049-04-4	O; R8 R6 T+; R26 C; R34 N; R50	O; T+; N R: 6-8-26-34-50 S: (1/2-)23-26-28-36/37/39-38-45-61	C ≥ 5 %: T+; N; R26-34-50 1 % ≤ C < 5 %: T+; N; R26-36/37/38-50 0,5 % ≤ C < 1 %: T; N; R23-36/37/38-50 0,2 % ≤ C < 0,5 %: T; N; R23-50 0,02 % ≤ C < 0,2 %: Xn; N; R20-50	
006-089-01-X	διοξείδιο του χλωρίου . . . %	B	233-162-8	10049-04-4	T; R25 C; R34 N; R50	T; N R: 25-34-50 S: (1/2-)23-26-28-36/37/39-45-61	C ≥ 25 %: T; N; R25-34-50 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R22-34-50 3 % ≤ C < 10 %: Xn; N; R22-36/37/38-50 0,3 % ≤ C < 3 %: Xi; R36	
007-001-00-5	αμμωνία, άνυδρος		231-635-3	7664-41-7	R10 T; R23 C; R34 N; R50	T; N R: 10-23-34-50 S: (1/2-)9-16-26-36/37/39-45-61	C ≥ 25 %: T, N; R23-34-50 5 % ≤ C < 25 %: T; R23-34 0,5 % ≤ C < 5 %: Xn; R20-36/37/38	
007-008-00-3	υδραζίνη	E	206-114-9	302-01-2	R10 Carc. Cat. 2; R45 T; R23/24/25 C; R34 R43 N; R50-53	T; N R: 45-10-23/24/25-34-43-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R45-23/24/25-34-43-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T, N; R45-20/21/22-34-43-51/53 3 % ≤ C < 10 %: T, N; R45-20/21/22-36/38-43-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T, N; R45-43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: T; R45-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R45	
007-010-00-4	νιτρώδες νάτριο		231-555-9	7632-00-0	O; R8 T; R25 N; R50	O; T; N R: 8-25-50 S: (1/2-)45-61	C ≥ 25 %: T, N; R25-50 5 % ≤ C < 25 %: T; R25 1 % ≤ C < 5 %: Xn; R22	
007-011-00-X	νιτρώδες κάλιο		231-832-4	7758-09-0	O; R8 T; R25 N; R50	O; T; N R: 8-25-50 S: (1/2-)45-61	C ≥ 25 %: T, N; R25-50 5 % ≤ C < 25 %: T; R25 1 % ≤ C < 5 %: Xn; R22	
007-013-00-0	1,2-διμεθυλυδραζίνη	E	-	540-73-8	Carc. Cat. 2; R45 T; R23/24/25 N; R51-53	T; N R: 45-23/24/25-51/53 S: 53-45-61	C ≥ 25 %: T, N; R45-23/24/25-51/53 3 % ≤ C < 25 %: T; R45-20/21/22-52/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T; R45-52/53 0,01 % ≤ C < 2,5 %: T; R45	
007-017-00-2	νιτρώδης ισοβουτυλεστέρας	E	208-819-7	542-56-3	F; R11	F; T		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
					Xn; R20/22 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68	R: 11-20/22-45-68 S: 53-45		
007-027-00-7	1,6-δις(3,3-δις((1-μεθυλοπεντυλιδενιμινο)προπυλ)ουρεϊδο)εξάνιο		420-190-2	-	Xn; R21/22-48/21 C; R34 R43 N; R50-53	C; N R: 21/22-34-43-48/21-50/53 S: (1/2-)7-26-36/37/39-45-60-61		
008-003-00-9	διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου ... %	B	231-765-0	7722-84-1	R5 O; R8 C; R35 Xn; R20/22	O; C R: 5-8-20/22-35 S: (1/2-)17-26-28-36/37/39-45	C ≥ 70 %: C; R20/22-35 50 % ≤ C < 70 %: C; R20/22-34 35 % ≤ C < 50 %: Xn; R22-37/38-41 8 % ≤ C < 35 %: Xn; R22-41 5 % ≤ C < 8 %: Xi; R36 Footnote: : C ≥ 70 %: R5, O;R8 50 % ≤ C < 70 %: O; R8	
009-015-00-7	διφθοριούχο σουλφουρύλιο		220-281-5	2699-79-8	T; R23 Xn; R48/20 N; R50	T; N R: 23-48/20-50 S: (1/2-)45-63-60-61		
015-002-00-7	ερυθρός φωσφόρος		231-768-7	7723-14-0	F; R11 R16 R52-53	F R: 11-16-52/53 S: (2-)7-43-61		
015-014-00-2	φωσφορικός τριβουτυλεστέρας		204-800-2	126-73-8	Carc.Cat.3; R40 Xn; R22 Xi; R38	Xn R: 22-38-40 S: (2-)36/37-46		
015-015-00-8	φωσφορικός τρικρεσυλεστέρας o-o-o, o-o-m, o-o-p, o-m-m, o-m-p, o-p-p	C	201-103-5	78-30-8	T; R39/23/24/25 N; R51-53	T; N R: 39/23/24/25-51/53 S: (1/2-)20/21-28-45-61	C ≥ 25 %: T, N; R39/23/24/25-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T; R39/23/24/25-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R39/23/24/25 0,2 % ≤ C < 1 %: Xn; R68/20/21/22	
015-016-00-3	φωσφορικός τρικρεσυλεστέρας m-m-m, m-m-p, m-p-p, p-p-p	C	201-105-6	78-32-0	Xn; R21/22 N; R51-53	Xn; N R: 21/22-51/53 S: (2-)28-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R21/22-51/53 5 % ≤ C < 25 %: Xn; R21/22-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: R52/53	
015-020-00-5	mevinphos (ISO) φωσφορικός 2-μεθοξυκαρβονυλο-1-μεθυλοβινυλο-διμεθυλεστέρας		232-095-1	7786-34-7	T+; R27/28 N; R50-53	T+; N R: 27/28-50/53 S: (1/2-)23-28-36/37-45-60-61	C ≥ 7 %: T+, N; R27/28-50-53 1 % ≤ C < 7 %: T, N; R24/25-50-53 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R21/22-50-53 0,0025 % ≤ C < 0,1 %: N; R50-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: N; R51-53 0,000025 % ≤ C < 0,00025 %: R52-53	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
015-021-00-0	trichlorfon (ISO) φωσφορώδης 2,2,2-τριχλωρο-1-υδροξυαιθυλο-διμεθυλεστέρας		200-149-3	52-68-6	Xn; R22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)24-37-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-43-50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53 0,2 % ≤ C < 25 %: N; R43-50-53 0,025 % ≤ C < 0,2 %: N; R50-53	
015-027-00-3	sulfotep (ISO) διθειοπυροφωσφορικός *O,O,O,O*-τετρααιθυλεστέρας		222-995-2	3689-24-5	T+; R27/28 N; R50-53	T+; N R: 27/28-50/53 S: (1/2-)23-28-36/37-45-60-61	C ≥ 7 %: T+, N; R27/28-50-53 1 % ≤ C < 7 %: T, N; R24/25-50-53 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R21/22-50-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	
015-032-00-0	prothoate (ISO) διθειοφωσφορικός *O,O*-διαιθυλ-ισοπροπυλοκαρβαμοϋλομεθυλεστέρας		218-893-2	2275-18-5	T+; R27/28 R52-53	T+ R: 27/28-52/53 S: (1/2-)28-36/37-45-61		
015-033-00-6	phorate (ISO) διθειοφωσφορικός *O,O*-διαιθυλ-αιθυλοθειομεθυλεστέρας		206-052-2	298-02-2	T+; R27/28 N; R50-53	T+; N R: 27/28-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61	C ≥ 7 %: T+, N; R27/28-50-53 1 % ≤ C < 7 %: T, N; R24/25-50-53 0,1 % ≤ C < 1%: Xn, N; R21/22-50-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	
015-034-00-1	parathion (ISO) θειοφωσφορικός *O,O*-διαιθυλ-*O*-4-νιτροφαινυλεστέρας		200-271-7	56-38-2	T+; R26/28 T; 24-48/25 N; R50-53	T+; N R: 24-26/28-48/25-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R24-26/28-48/25-50-53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R21-26/28-48/25-50-53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R21-26/28-48/22-50-53 3 % ≤ C < 7 %: T, N; R21-23/25-48/22-50-53 1 % ≤ C < 3 %: T, N; R23/25-48/22-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20/22-50-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn, N; R20/22-51-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-035-00-7	parathion - methyl (ISO) θειοφωσφορικός *O,O*-διμεθυλ-*O*-4-νιτροφαινυλεστέρας		206-050-1	298-00-0	R5 R10 T+; R26/28 T; R24 Xn; R48/22 N; R50-53	T+; N R: 5-10-24-26/28-48/22-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R24-26/28-48/22-50-53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R21-26/28-48/22-50-53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R21-26/28-50-53	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
							3 % ≤ C < 7 %: T, N; R21-23/25-50-53 1 % ≤ C < 3 %: T, N; R23/25-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20/22-50-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn, N; R20/22-51-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-041-00-X	malathion (ISO) διθειοφωσφορικός 1,2-δις(αιθοξυκαρβονυλ)αιθυλ-*O,O*-διμεθυλεστέρας		204-497-7	121-75-5	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)24-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-50-53 0,25 % ≤ C < 25 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-042-00-5	chlorthion (ονομασία που δεν έχει υιοθετηθεί από την ISO) θειοφωσφορικός *O,O*-διμεθυλο-*O*-(3-χλωρο-4-νιτρο)φαινυλ-εστέρας		207-902-5	500-28-7	Xn; R20/21/22 N; R50-53	Xn; N R: 20/21/22-50/53 S: (2-)13-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20/21/22-50-53 0,25 % ≤ C < 25 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-047-00-2	ethion (ISO) *S,S'*-μεθυλενοδις(διθειοφωσφορικός) *O,O,O',O'*-τετρααιθυλεστέρας		209-242-3	563-12-2	T; R25 Xn; R21 N; R50-53	T; N R: 21-25-50/53 S: (1/2-)25-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R21-25-50-53 3 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-50-53 0,0025 % ≤ C < 3 %: N; R50-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: N; R51-53 0,000025 % ≤ C < 0,00025 %: R52-53	
015-052-00-X	fenchlorphos (ISO) θειοφωσφορικός *O,O*-διμεθυλ-*O*-2,4,5-τριχλωροφαινυλεστέρας		206-082-6	299-84-3	Xn; R21/22 N; R50-53	Xn; N R: 21/22-50/53 S: (2-)25-36/37-60-61		
015-055-00-6	naled (ISO) φωσφορικός 1,2-διβρωμο-2,2-διχλωροαιθυλο-διμεθυλεστέρας		206-098-3	300-76-5	Xn; R21/22 Xi; R36/38 N; R50	Xn; N R: 21/22-36/38-50 S: (2-)36/37-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R21/22-36/38-50 20 % ≤ C < 25 %: Xi, N; R36/38-50 0,025 % ≤ C < 20 %: N; R50	
015-063-00-X	dioxathion (ISO) δι(διθειοφωσφορικό) *O,O,O',O'*-τετρααιθυλ-1,4-διοξάνο-2,3-διύλιο		201-107-7	78-34-2	T+; R26/28 T; R24 N; R50-53	T+; N R: 24-26/28-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R24-26/28-50-53 7 % ≤ C < 25 %: T+, N; R21-26/28-50-53 3 % ≤ C < 7 %: T, N; R21-23/25-50-53 1 % ≤ C < 3 %: T, N; R23/25-50-53 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20/22-50-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	
015-065-00-0	διθειοφωσφορικός *O,O*-διμεθυλο-*S*-(2-αιθυλοσουλφινυλο)-αιθυλ-εστέρας		-	2703-37-9	T+; R26/27/28 N; R51-53	T+; N R: 26/27/28-51/53 S: (1/2-)13-28-45-61		
015-076-00-0	potasan		-	299-45-6	T+; R26/27/28	T+; N	C ≥ 7 %: T+, N; R26/27/28-50-53	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	θειοφωσφορικός *O,O*-διαιθυλο-*O*-(4-μεθυλο-κουμαριν-7-υλ)-εστέρας				N; R50-53	R: 26/27/28-50/53 S: (1/2-)13-28-45-60-61	1 % ≤ C < 7 %: T, N; R23/24/25-50-53 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20/21/22-50-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	
015-078-00-1	demeton-*S*-methylsulfon θειοφωσφορικός *S*-2-αιθυλοσουλφονυλαιθυλο-διμεθυλεστέρας		241-109-5	17040-19-6	T; R25 Xn; R21 N; R51-53	T; N R: 21-25-51/53 S: (1/2-)22-28-36/37-45-61		
015-083-00-9	bensulide (ISO) διθειοφωσφορικός *O,O*-δυσοπροπυλο-2-φαινυλοσουλφονυλαμινοαιθυλ εστέρας		212-010-4	741-58-2	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)24-36-60-61		
015-084-00-4	chlorpyrifos (ISO) θειοφωσφορικός *O,O*-διαιθυλ-*O*-3,5,6-τριχλωρο-2-πυριδυλεστέρας		220-864-4	2921-88-2	T; R25 N; R50-53	T; N R: 25-50/53 S: (1/2-)45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R25-50-53 3 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-50-53 0,0025 % ≤ C < 3 %: N; R50-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: N; R51-53 0,000025 % ≤ C < 0,00025 %: R52-53	
015-095-00-4	methamidophos (ISO) θειοφωσφοραμιδικό *O,S*-διμεθύλιο		233-606-0	10265-92-6	T+; R26/28 T; R24 N; R50	T+; N R: 24-26/28-50 S: (1/2-)28-36/37-45-61		
015-096-00-X	oxydisulfoton διθειοφωσφορικός *O,O*-διαιθυλο-*S*-(2-αιθυλοσουλφινυλο)-αιθυλεστέρας		219-679-1	2497-07-6	T+; R28 T; R24 N; R50-53	T+; N R: 24-28-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R24-28-50-53 7 % ≤ C < 25 %: T+, N; R21-28-50-53 3 % ≤ C < 7 %: T, N; R21-25-50-53 1 % ≤ C < 3 %: T, N; R25-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R22-50-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn, N; R22-51-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: R52-53	
015-097-00-5	phenthoate (ISO) 2-(διμεθοξυφωσφινοθειοϋλοθειο)-2-φαινυλοξικός αιθυλεστέρας		219-997-0	2597-03-7	Xn; R21/22 N; R50-53	Xn; N R: 21/22-50/53 S: (2-)22-36/37-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R21/22-50-53 0,25 % ≤ C < 25 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-100-00-X	phoxim (ISO) α-(διαιθοξυφωσφινοθειοϋλιμινο) φαινυλακετονιτρίλιο		238-887-3	14816-18-3	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)36-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-50-53 0,025 % ≤ C < 25 %: N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	
015-101-00-5	phosmet (ISO) διθειοφωσφορικός *O,O*-διμεθυλ-		211-987-4	732-11-6	Xn; R21/22 N; R50-53	Xn; N R: 21/22-50/53 S: (2-)22-36/37-60-	C ≥ 25 %: Xn, N; R21/22-50-53 0,25 % ≤ C < 25 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	φθαλιμιδομεθυλεστέρας					61	0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-105-00-7	φωσφορώδης τριφαινυλεστέρας		202-908-4	101-02-0	Xi; R36/38 N; R50-53	Xi; N R: 36/38-50/53 S: (2-)28-60-61	C ≥ 25 %: Xi, N; R36/38-50/53 5 % ≤ C < 25 %: Xi, N; R36/38-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53	
015-107-00-8	ethoprophos (ISO) διθειοφωσφορικός αιθυλ-*S,S*-διπροπυλεστέρας		236-152-1	13194-48-4	T+; R26/27 T; R25 R43 N; R50-53	T+; N R: 25-26/27-43-50/53 S: (1/2-)27/28-36/37/39-45-60-61		
015-108-00-3	bromophos (ISO) θειοφωσφορικός *O*-4-βρωμο-2,5-διχλωροφαινυλ-*O,O*-διμεθυλεστέρας		218-277-3	2104-96-3	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)36-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-50-53 0,25 % ≤ C < 25 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-109-00-9	crotoxyphos (ISO) 3-(διμεθοξυφωσφινυλοξυ)ισοκροτωνικός 1-φαινυλαιθυλεστέρας		231-720-5	7700-17-6	T; R24/25 N; R50-53	T; N R: 24/25-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R24/25-50-53 3 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R21/22-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %: N; R50-53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
015-110-00-4	cyanofenfos (ISO) φαινυλοθειοφωσφορώδης *O*-4-κυανοφαινυλ-*O*-αιθυλεστέρας		-	13067-93-1	T; R25-39/25 Xn; R21 Xi; R36 N; R51-53	T; N R: 21-25-36-39/25-51/53 S: (1/2-)36/37-45-61		
015-114-00-6	chlormephos (ISO) διθειοφωσφορικός *S*-χλωρομεθυλ-*O,O*-διαιθυλεστέρας		246-538-1	24934-91-6	T+; R27/28 N; R50-53	T+; N R: 27/28-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61		
015-115-00-1	chlorthiophos (ISO)		244-663-6	21923-23-9	T+; R28 T; R24 N; R50-53	T+; N R: 24-28-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61		
015-122-00-X	etrimfos θειοφωσφορικός *O*-6-αιθοξυ-2-αιθυλοπυριμιδιν-4-υλ-*O,O*-διμεθυλεστέρας		253-855-9	38260-54-7	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-50-53 2,5 % ≤ C < 25 %: N; R50-53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
015-123-00-5	fenamiphos (ISO) *N*-ισοπροπυλοφωσφοραμιδικός αιθυλο-4-μεθυλοθειο-τολουολεστέρας		244-848-1	22224-92-6	T+; R28 T; R24 N; R50-53	T+; N R: 24-28-50/53 S: (1/2-)23-28-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R24-28-50-53 7 % ≤ C < 25 %: T+, N; R21-28-50-53 3 % ≤ C < 7 %: T, N; R21-25-50-53 1 % ≤ C < 3 %: T, N; R25-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R22-50-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn, N; R22-51-53	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
							0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-126-00-1	heptenophos (ISO) φωσφορικός 7-χλωροδικυκλο(3.2.0)επτα-2,6-διεν-6-υλο-διμεθυλεστέρας		245-737-0	23560-59-0	T; R25 N; R50-53	T; N R: 25-50/53 S: (1/2-)23-28-37-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R25-50-53 3 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-50-53 0,25 % ≤ C < 3 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-127-00-7	iprobenfos θειοφωσφορικός *S*-βενζυλο-δισοπροπυλεστέρας		247-449-0	26087-47-8	Xn; R22 N; R51-53	Xn; N R: 22-51/53 S: (2-)61		
015-128-00-2	IPSP διθειοφωσφορικός *S*-αιθυλοσουλφινυλομεθυλ-*O,O*-δισοπροπυλεστέρας		-	5827-05-4	T+; R27 T; R25 N; R50-53	T+; N R: 25-27-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R25-27-50-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53 3 % ≤ C < 7 %: T, N; R22-24-50-53 7 % ≤ C < 25 %: T+, N; R22-27-50-53 1 % ≤ C < 3 %: T, N; R24-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R21-50-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn, N; R21-51-53	
015-129-00-8	isofenphos (ISO) *N*-ισοπροπυλοθειοφωσφοραμιδικός *O*-αιθυλ-*O*-2-ισοπροποξυκαρβονυλοφαινυλεστέρας		246-814-1	25311-71-1	T; R24/25 N; R50-53	T; N R: 24/25-50/53 S: (1/2-)36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R24/25-50-53 3 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R21/22-50-53 0,25 % ≤ C < 3 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-131-00-9	isoxathion (ISO) θειοφωσφορικός *O,O*-διαιθυλ-*O*-5-φαινυλισοξαζολ-3-υλεστέρας		242-624-8	18854-01-8	T; R24/25 N; R50-53	T; N R: 24/25-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61		
015-132-00-4	methylcarbophenothione διθειοφωσφορικός *S*-(χλωροφαινυλοθειομεθυλ)-*O,O*-διμεθυλεστέρας		-	953-17-3	T; R24/25 N; R50-53	T; N R: 24/25-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R24/25-50-53 3 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R21/22-50-53 0,025 % ≤ C < 3 %: N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	
015-133-00-X	piperophos (ISO) διθειοφωσφορικός *S*-2-μεθυλοπιπεριδινοκαρβονυλομεθυλο-*O,O*-διπροπυλεστέρας		-	24151-93-7	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-50-53 2,5 % ≤ C < 25 %: N; R50-53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
015-134-00-5	pirimiphos-methyl (ISO) θειοφωσφορικός *O*-(2-διαιθυλαμινο-6-μεθυλοπυριμιδιν-4-υλ)-*O,O*-διμεθυλεστέρας		249-528-5	29232-93-7	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)60-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
015-135-00-0	profenofos θειοφωσφορικός *O*-(4-βρωμο-2-χλωροφαινυλ)-*O*-αιθυλο-*S*-προπυλεστέρας		255-255-2	41198-08-7	Xn; R20/21/22 N; R50-53	Xn; N R: 20/21/22-50/53 S: (2-)36/37-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20/21/22-50-53 0,025 % ≤ C < 25 %: N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	
015-136-00-6	propetamphos (ISO) (((αιθυλαμινο)μεθοξυφωσφινο θειουλ)οξυ)κροτονικός εστέρας; ισοπροπυλ 3-((αιθυλαμινο)μεθοξυφωσφινο θειουλ)οξύ) ισοκροτονικός εστέρας		250-517-2	31218-83-4	T; R25 N; R50-53	T; N R: 25-50/53 S: (1/2-)37-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R25-50-53 3 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-50-53 0,25 % ≤ C < 3 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-138-00-7	quinalphos (ISO) θειοφωσφορικός *O,O*-διαιθυλ-*O*-κινοξαλιν-2-υλεστέρας		237-031-6	13593-03-8	T; R25 Xn; R21 N; R50-53	T; N R: 21-25-50/53 S: (1/2-)22-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R21-25-50-53 3 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-50-53 0,025 % ≤ C < 3 %: N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	
015-139-00-2	terbufos (ISO) θειοφωσφορικός *S*-τριτ.-βουτυλοθειομεθυλ-*O,O*-διαιθυλεστέρας		235-963-8	13071-79-9	T+; R27/28 N; R50-53	T+; N R: 27/28-50/53 S: (1/2-)36/37-45-60-61	C ≥ 7 %: T+, N; R27/28-50-53 1 % ≤ C < 7 %: T, N; R24/25-50-53 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R21/22-50-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	
015-154-00-4	ethephon 2-χλωροαιθυλοφωσφονικό οξύ		240-718-3	16672-87-0	Xn; R20/21 C; R34 R52-53	C R: 20/21-34-52/53 S: (1/2-)26-28-36/37/39-45-61	C ≥ 25 %: C; R20/21-34-52/53 10 % ≤ C < 25 %: C; R34 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/37/38	
015-179-00-0	Προϊόν συμπυκνώσεως UVCB του: χλωριούχου τετράκις-υδροξυμεθυλοφωσφονίου, ουρίας και απεσταγμένης υδρογονωμένης C16-18 στεατο-αλκυλαμίνης		422-720-8	166242-53-1	Carc. Cat. 3; R40 Xn; R22-48/22 C; R34 R43 N; R50-53	C; N R: 22-34-40-43-48/22-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61		
016-001-00-4	σουλφίδιο του υδρογόνου		231-977-3	7783-06-4	F+; R12 T+; R26 N; R50	F+; T+; N R: 12-26-50 S: (1/2-)9-16-28-36/37-45-61	C ≥ 25 %: T+, N; R26-50 10 % ≤ C < 25 %: T+; R26 5 % ≤ C < 10 %: T; R23 1 % ≤ C < 5 %: Xn; R20	
016-008-00-2	πολυθειούχο αμμώνιο		232-989-1	9080-17-5	R31 C; R34 N; R50	C; N R: 31-34-50 S: (1/2-)26-45-61	C ≥ 25 %: C, N ; R31-34-50 5 % ≤ C < 25 %: C; R31-34 1 % ≤ C < 5 %: Xi; R31-36/38	
016-012-00-4	μονοχλωριούχο θείο		233-036-2	10025-67-9	R14 T; R25 Xn; R20	T; C; N R: 14-20-25-29-35-50	C ≥ 25 %: T, C, N; R20-25-35-50 10 % ≤ C < 25 %: C; R22-35 5 % ≤ C < 10 %: C; R22-34	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
					R29 C; R35 N; R50	S: (1/2-)26-36/37/39-45-61	3 % ≤ C < 5 %: Xn; R22-36/37/38 1 % ≤ C < 3 %: Xi; R36/37/38	
016-013-00-X	διχλωρίδιο του θείου διχλωριούχο θείο		234-129-0	10545-99-0	R14 C; R34 Xi; R37 N; R50	C; N R: 14-34-37-50 S: (1/2-)26-45-61	C ≥ 25 %: C, N ; R34-50 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/37/38 10 % ≤ C < 25 %: C; R34	
016-014-00-5	τετραχλωριούχο θείο		-	13451-08-6	R14 C; R34 N; R50	C; N R: 14-34-50 S: (1/2-)26-45-61	C ≥ 25 %: C, N; R34-50 10 ≤ C < 25 %: C; R34 5 ≤ C < 10 %: Xi; R36/37/38	
016-021-00-3	μεθανοθειόλη μεθυλομερκαπτάνη		200-822-1	74-93-1	F+; R12 T; R23 N; R50-53	F+; T; N R: 12-23-50/53 S: (2-)16-25-60-61		
016-023-00-4	θειικός διμεθυλεστέρας	E	201-058-1	77-78-1	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 T+; R26 T; R25 C; R34 R43	T+ R: 45-25-26-34-43-68 S: 53-45	C ≥ 25 %: T+; R45-R25-R26-R34-R43-R68 10 % ≤ C < 25 %: T+; R45-R22-R26-R34-R43-R68 7 % ≤ C < 10 %: T+; R45-R22-R26-R36/37/38-R43-R68 5 % ≤ C < 7 %: T; R45-R22-R23-R36/37/38-R43-R68 3 % ≤ C < 5 %: T; R45-R22-R23-R43-R68 1 % ≤ C < 3 %: T; R45-R23-R43-R68 0,1 % ≤ C < 1 %: T; R45-R20-R68 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45-R68	
016-059-00-0	*N,N,N′,N′*-διυδροχλωριούχο δις(2-διμεθυλαμινοαιθυλο)δισουλφίδιο		405-300-9	17339-60-5	Xn; R22 Xi; R36 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-36-43-50/53 S: (2-)26-36/37-60-61		
017-003-00-8	χλωρικό βάριο		236-760-7	13477-00-4	O; R9 Xn; R20/22 N; R51-53	O; Xn; N R: 9-20/22-51/53 S: (2-)13-27-61		
017-004-00-3	χλωρικό κάλιο		223-289-7	3811-04-9	O; R9 Xn; R20/22 N; R51-53	O; Xn; N R: 9-20/22-51/53 S: (2-)13-16-27-61		
017-005-00-9	χλωρικό νάτριο		231-887-4	7775-09-9	O; R9 Xn; R22 N; R51-53	O; Xn; N R: 9-22-51/53 S: (2-)13-17-46-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
017-011-00-1	υποχλωριώδες νάτριο, διάλυμα ... % ενεργό χλώριο	B	231-668-3	7681-52-9	C; R34 R31 N; R50	C; N R: 31-34-50 S: (1/2-)28-45-50-61	C ≥ 25 %: C, N; R31-34-50 10 % ≤ C < 25 %: C; R31-34 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R31-36/38	
017-012-00-7	υποχλωριώδες ασβέστιο		231-908-7	7778-54-3	O; R8 Xn; R22 R31 C; R34 N; R50	O; C; N R: 8-22-31-34-50 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61	C ≥ 25 %: C, N; R22-34-50 10 % ≤ C < 25 %: C; R34 3 % ≤ C < 10 %: Xi; R37/38-41 0,5 % ≤ C < 3 %: Xi; R36	
024-001-00-0	τριοξείδιο του χρώμιου (VI)	E	215-607-8	1333-82-0	O; R9 Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 3; R62 T+; R26 T; R24/25-48/23 C; R35 R42/43 N; R50-53	O; T+; N R: 45-46-9-24/25-26-35-42/43-48/23-62-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R24/25-26-35-42/43-45-46-48/23-50/53-62 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R24/25-26-35-42/43-45-46-48/23-51/53-62 5 % ≤ C < 10 %: T+, N; R24/25-26-34-42/43-45-46-48/20-51/53-62 3 % ≤ C < 5 %: T+, N; R24/25-26-36/37/38-42/43-45-46-48/20-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T+, N; R26-36/37/38-42/43-45-46-48/20-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T+; R26-36/37/38-42/43-45-46-48/20-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46	
024-002-00-6	διχρωμικό κάλιο	E	231-906-6	7778-50-9	O; R8 Carc. Cat. 2: R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23 Xn; R21 C; R34 R42/43 N; 50-53	T+; N; O R: 45-46-60-61-8-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R45-46-60-61-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-34-42/43-48/23-51/53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-36/37/38-42/43-48/20-51/53 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-36/37/38-42/43-48/20-51/53 3 % ≤ C < 5 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-60-61-20-42/43-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-20-42/43-52/53 0,2 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-20-42/43 0,1 % ≤ C < 0,2 %: T; R45-46-20	3

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
024-003-00-1	διχρωμικό αμμώνιο	E	232-143-1	7789-09-5	E; R2 O; R8 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23 Xn; R21 C; R34 R42/43 N; R50-53	E; T+; N R: 45-46-60-61-2-8-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R45-46-60-61-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-34-42/43-48/23-50/53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-36/37/38-42/43-48/20-50/53 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-36/37/38-42/43-48/20-51/53 3 % ≤ C < 5 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-60-61-20-42/43-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-20-42/43-52/53 0,2 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-20-42/43 0,1 % ≤ C < 0,2 %: T; R45-46-20	3
024-004-00-7	διχρωμικό νάτριο, άνυδρο	E	234-190-3	10588-01-9	O; R8 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23 Xn; R21 C; R34 R42/43 N; 50-53	T+; N; O R: 45-46-60-61-8-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R45-46-60-61-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-34-42/43-48/23-51/53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-36/37/38-42/43-48/20-51/53 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-36/37/38-42/43-48/20-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T ; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-60-61-20-42/43-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-20-42/43-52/53 0,2 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-20-42/43 0,1 % ≤ C < 0,2 %: T; R45-46-20	3
024-004-01-4	διχρωμικό νάτριο, διένυδρο	E	234-190-3	7789-12-0	O; R8 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23	T+; N; O R: 45-46-60-61-8-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R45-46-60-61-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-34-42/43-48/23-51/53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-36/37/38-42/43-48/20-51/53	3

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
					Xn; R21 C; R34 R42/43 N; R50-53		5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-36/37/38-42/43-48/20-51/53 2.5 % ≤ C < 5 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-60-61-20-42/43-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-20-42/43-52/53 0,2 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-20-42/43 0,1 % ≤ C < 0,2 %: T; R45-46-20	
024-011-00-5	δις(1-(3,5-δινιτρο-2-οξειδοφαινυλαζω)-3-(Ν-φαινυλοκαρβαμοϋλο)-2-ναφθολατο)χρωμικό(1-) αμμώνιο		400-110-2	-	F; R11 N; R50-53	F; N R: 11-50/53 S: (2-)33-60-61		
024-018-00-3	Χρωμικό νάτριο	E	231-889-5	7775-11-3	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat.2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23 Xn; R21 C; R34 R42/43 N; R50-53	T+; N R: 45-46-60-61-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R45-46-60-61-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-34-42/43-48/23-51/53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-36/37/38-42/43-48/20-51/53 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-36/37/38-42/43-48/20-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-60-61-20-42/43-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-20-42/43-52/53 0,2 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-20-42/43 0,1 % ≤ C < 0,2 %: T; R45-46-20	3
027-004-00-5	διχλωρίδιο του κοβάλτιου	E	231-589-4	7646-79-9	Carc. Cat. 2; R49 Xn; R22 R42/43 N; R50-53	T; N R: 49-22-42/43-50/53 S: (2-)22-53-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R49-22-42/43-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R49-22-42/43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R49-42/43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: T; R49-52/53 0,01 % ≤ C < 0,25 %: T; R49	1
027-005-00-0	θειικό κοβάλτιο	E	233-334-2	10124-43-3	Carc. Cat. 2; R49 Xn; R22	T; N R: 49-22-42/43-	C ≥ 25 %: T, N; R49-22-42/43-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R49-42/43-	1

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
					R42/43 N; R50-53	50/53 S: (2-)22-53-45-60-61	51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R49-42/43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: T; R49-52/53 0,01 % ≤ C < 0,25 %: T; R49	
029-002-00-X	οξείδιο του χαλκού (Ι)		215-270-7	1317-39-1	Xn; R22 N; 50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)22-60-61		
030-001-00-1	ψευδάργυρος σκόνη (πυροφόρος)		231-175-3	7440-66-6	F; R15-17 N; R50-53	F; N R: 15-17-50/53 S: (2-)43-46-60-61		
030-002-00-7	ψευδάργυρος σκόνη (σταθεροποιημένος)		231-175-3	7440-66-6	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
030-003-00-2	χλωρίδιο του ψευδαργύρου		231-592-0	7646-85-7	Xn; R22 C; R34 N; R50-53	C; N R: 22-34-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: C, N; R22-34-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R34-51/53 5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R36/37/38-51/53 2.5 % ≤ C < 5 %: N; R51/53 0.25 % ≤ C < 2.5 %: R52/53	
030-006-00-9	θεικός ψευδάργυρος (ένυδρος) (μονο-, εξα-, επτά ένυδρος) [1] θειϊκός ψευδάργυρος (άνυδρος) [2]		231-793-3 [1] 231-793-3 [2]	7446-19-7 [1] 7733-02-0 [2]	Xn; R22 R41 N; R50-53	Xn; N R: 22-41-50/53 S: (2-)22-26-39-46-60-61		
033-001-00-X	αρσενικό		231-148-6	7440-38-2	T; R23/25 N; R50-53	T; N R: 23/25-50/53 S: (1/2-)20/21-28-45-60-61		
033-002-00-5	ενώσεις αρσενικού, εκτός από αυτές που ρητώς κατονομάζονται σ' άλλο σημείο στο παρόν παράρτημα	A	-	-	T; R23/25 N; R50-53	T; N R: 23/25-50/53 S: (1/2-)20/21-28-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R23/25-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R23/25-51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: T; R23/25-52/53 0,2 % ≤ C < 0,25 %: T; R23/25 0,1 % ≤ C < 0,2 %: Xn; R20/22	1
042-002-00-4	τετράκις(διμεθυλδιτετραδεκυλ αμμώνιο) εξα-.μ.-οξοτετρα-.μ.3-οξόδι-.μ .5-οξοδεκατεσσεροξοοκτα μολυβδικό(4-)		404-760-8	117342-25-3	T; R23 Xi; R41 R53	T R: 23-41-53 S: (1/2-)26-37/39-45-61		
048-001-00-5	ενώσεις καδμίου εκτός του θειοσεληνιούχου καδμίου (xCdS.yCdSe), των μιγμάτων θειούχου καδμίου με θειούχο ψευδάργυρο (xCdS.yZnS), των μιγμάτων θειούχου	A	-	-	Xn; R20/21/22 N; R50-53	Xn; N R: 20/21/22-50/53 S: (2-)60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20/21/22-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20/21/22-51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/21/22-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/21/22	1

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	καδμίου με θειούχο υδράργυρο (xCdS.yHgS), και των ενώσεων που κατονομάζονται σ' άλλο σημείο στο παρόν παράρτημα							
048-003-00-6	μυρμηκικό κάδμιο		224-729-0	4464-23-7	T; R23/25 R33 Xn; R68 N; R50-53	T; N R: 23/25-33-68-50/53 S: (1/2-)22-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R23/25-33-50/53-68 10 % ≤ C < 25 %: T, N; R23/25-33-51/53-68 2,5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R20/22-33-51/53-68 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/22-33-52/53-68 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/22-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/22-33-52/53	
048-004-00-1	κυανίδιο του κάδμιου		208-829-1	542-83-6	T+; R26/27/28 R32 R33 Xn; R68 N; R50-53	T+; N R: 26/27/28-32-33-68-50/53 S: (1/2-)7-28-29-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R26/27/28-32-33-50/53-68 7 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26/27/28-32-33-51/53-68 2,5 % ≤ C < 7 %: T, N; R23/24/25-32-33-51/53-68 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R23/24/25-32-33-52/53-68 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/21/22-33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/21/22-33	
048-005-00-7	εξαφθοροπυριτικό(2-)κάδμιο		241-084-0	17010-21-8	T; R23/25 R33 Xn; R68 N; R50-53	T; N R: 23/25-33-68-50/53 S: (1/2-)22-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R23/25-33-50/53-68 10 % ≤ C < 25 %: T, N; R23/25-33-51/53-68 2,5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R20/22-33-51/53-68 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/22-33-52/53-68 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/22-33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/22-33	
048-006-00-2	φθοριούχο κάδμιο	E	232-222-0	7790-79-6	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23/25 N; R50-53	T+; N R: 45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %:: T+, N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-51/53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-48/23/25-51/53 2,5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-52/53	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
							0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-60-61-20/22-48/20/22-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-20/22-48/20/22-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-20/22-48/20/22 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	
048-007-00-8	ιωδίδιο του κάδμιου		232-223-6	7790-80-9	T; R23/25 R33 Xn; R68 N; R50-53	T; N R: 23/25-33-68-50/53 S: (1/2-)22-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R23/25-33-50/53-68 10 % ≤ C < 25 %: T, N; R23/25-33-51/53-68 2,5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R20/22-33-51/53-68 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/22-33-52/53-68 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/22-33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/22-33	
048-008-00-3	χλωριούχο κάδμιο	E	233-296-7	10108-64-2	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23/25 N; R50-53	T+; N R: 45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-51/53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-48/23/25-51/53 2,5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-60-61-20/22-48/20/22-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-20/22-48/20/22-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-20/22-48/20/22 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	
048-009-00-9	Θειϊκό κάδμιο	E	233-331-6	10124-36-4	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 T; R48/23/25 T+; R26 T; R25 N; R50-53	T+; N R: 45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-51/53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-48/23/25-51/53 2,5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-60-61-20/22-48/20/22-52/53	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
							0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-20/22-48/20/22-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-20/22-48/20/22 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	
048-010-00-4	σουλφίδιο του καδμίου θειούχο κάδμιο	E	215-147-8	1306-23-6	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62-63 T; R48/23/25 Xn; R22 R53	T; N R: 45-22-48/23/25-62-63-68-53 S: 53-45-61	C ≥ 25 %: T; R45-22-48/23/25-62-63-68-53 10 % ≤ C < 25 %: T; R45-22-48/23/25-62-63-68 5 % ≤ C < 10 %: T; R45-48/20/22-62-63-68 1 % ≤ C < 5 %: T; R45-48/20/22-68 0,1 % ≤ C < 1 %: T; R45-48/20/22	1
050-001-00-5	τετραχλωρίδιο του κασσιτέρου		231-588-9	7646-78-8	C; R34 R52-53	C R: 34-52/53 S: (1/2-)7/8-26-45-61	C ≥ 25 %: C; R34-52/53 10 % ≤ C < 25 %: C; R34 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/37/38	
050-005-00-7	ενώσεις τριμεθυλοκασσιτέρου εκτός από αυτές που ρητώς κατονομάζονται σ' άλλο σημείο στο παρόν παράρτημα	A	-	-	T+; R26/27/28 N; R50-53	T+; N R: 26/27/28-50/53 S: (1/2-)26-27-28-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R26/27/28-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26/27/28-51/53 0,5 % ≤ C < 2,5 %: T+; R26/27/28-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R23/24/25-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R23/24/25 0,05 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/21/22	1
050-006-00-2	ενώσεις τριαιθυλοκασσιτέρου εκτός από αυτές που ρητώς κατονομάζονται σ' άλλο σημείο στο παρόν παράρτημα	A	-	-	T+; R26/27/28 N; R50-53	T+; N R: 26/27/28-50/53 S: (1/2-)26-27-28-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R26/27/28-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26/27/28-51/53 0,5 % ≤ C < 2,5 %: T+; R26/27/28-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R23/24/25-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R23/24/25 0,05 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/21/22	1
050-007-00-8	ενώσεις τριπροπυλοκασσιτέρου εκτός από αυτές που ρητώς κατονομάζονται σ' άλλο σημείο στο παρόν παράρτημα	A	-	-	T; R23/24/25 N; R50-53	T; N R: 23/24/25-50/53 S: (1/2-)26-27-28-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R23/24/25-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R23/24/25-51/53 0,5 % ≤ C < 2,5 %: T; R23/24/25-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: Xn; R20/21/22-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/21/22	1

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
050-008-00-3	ενώσεις τριβουτυλοκασσιτέρου εκτός από αυτές που ρητώς κατονομάζονται σ' άλλο σημείο στο παρόν παράρτημα	A	-	-	T; R25-48/23/25 Xn; R21 Xi; R36/38 N; R50-53	T; N R: 21-25-36/38-48/23/25-50/53 S: (1/2-)35-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R21-25-36/38-48/23/25-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R21-25-36/38-48/23/25-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R21-25-36/38-48/23/25-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; R22-48/20/22-52/53	1
050-009-00-9	- φθοροτριπεντυλοκασσιτεράνιο [1] εξαπεντυλοδικασσιτεροξάνιο [2]		243-546-7 [1] 247-143-7 [2]	20153-49-5 [1] 25637-27-8 [2]	Xn; R20/21/22 N; R50-53	Xn; N R: 20/21/22-50/53 S: (2-)26-28-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20/21/22-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20/21/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/21/22-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	1
050-010-00-4	φθοροτριεξυλοκασσιτεράνιο		243-547-2	20153-50-8	Xn; R20/21/22 N; R50-53	Xn; N R: 20/21/22-50/53 S: (2-)26-28-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20/21/22-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20/21/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/21/22-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	1
050-011-00-X	ενώσεις τριφαινυλοκασσιτέρου εκτός από αυτές που ρητώς κατονομάζονται σ' άλλο σημείο στο παρόν παράρτημα	A	-	-	T; R23/24/25 N; R50-53	T; N R: 23/24/25-50/53 S: (1/2-)26-27-28-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R23/24/25-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R23/24/25-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R23/24/25-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/21/22-52/53	1
050-012-00-5	τετρακυκλοεξυλοκασσιτεράνιο [1] χλωροτρικυκλοεξυλοκασσιτεράνιο [2] βουτυλοτρικυκλοεξυλοκασσιτεράνιο [3]	A	215-910-5 [1] 221-437-5 [2] 230-358-5 [3]	1449-55-4 [1] 3091-32-5 [2] 7067-44-9 [3]	Xn; R20/21/22 N; R50-53	Xn; N R: 20/21/22-50/53 S: (2-)26-28-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20/21/22-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20/21/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/21/22-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	1
050-013-00-0	ενώσεις τριοκτυλοκασσιτέρου, εκτός εκείνων που κατονομάζονται σε άλλο σημείο αυτού του παραρτήματος	A	-	-	Xi; R36/37/38 R53	Xi R: 36/37/38-53 S: (2-)61	C ≥ 25 %: Xi; R36/37/38-53 1 % ≤ C < 25 %: Xi; R36/37/38	1
051-002-00-3	πενταχλωρίδιο του αντιμόνιου		231-601-8	7647-18-9	C; R34 N; R51-53	C; N R: 34-51/53 S: (1/2-)26-45-61	C ≥ 25 %: C, N; R34-51/53 10 % ≤ C < 25 %: C; R34-52/53 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/37/38-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: R52/53	
051-003-00-9	ενώσεις αντιμονίου, εκτός του τετροξειδίου του αντιμονίου (Sb_2O_4), του πεντοξειδίου του	A	-	-	Xn; R20/22 N; R51-53	Xn; N R: 20/22-51/53 S: (2-)61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20/22-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: Xn; R20/22-52/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/22	1

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	αντιμονίου (Sb_2O_5), του τριθειούχου αντιμονίου (Sb_2S_3), του πενταθειούχου αντιμονίου (Sb_2S_5) και των ενώσεων αντιμονίου που ρητώς κατονομάζονται σε άλλο σημείο στο παρόν παράρτημα							
080-002-00-6	ανόργανες ενώσεις υδραργύρου εκτός από το θειούχο υδράργυρο και τις ενώσεις που ρητώς κατονομάζονται σ' άλλο σημείο στο παρόν παράρτημα	A	-	-	T+; R26/27/28 R33 N; R50-53	T+; N R: 26/27/28-33-50/53 S: (1/2-)13-28-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R26/27/28-33-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26/27/28-33-51/53 2 % ≤ C < 2,5 %: T+; R26/27/28-33-52/53 0,5 % ≤ C < 2 %: T; R23/24/25-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: Xn; R20/21/22-33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/21/22-33	1
080-004-00-7	οργανικές ενώσεις υδραργύρου εκτός από αυτές που ρητώς κατονομάζονται σ' άλλο σημείο στο παρόν παράρτημα	A	-	-	T+; R26/27/28 R33 N; R50-53	T+; N R: 26/27/28-33-50/53 S: (1/2-)13-28-36-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R26/27/28-33-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26/27/28-33-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T+; R26/27/28-33-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R23/24/25-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: Xn; R20/21/22-33-52/53 0,05 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/21/22-33	1
080-007-00-3	-διμεθυλυδράργυρος [1] διαιθυλυδράργυρος [2]		209-805-3 [1] 211-000-7 [2]	593-74-8 [1] 627-44-1 [2]	T+; R26/27/28 R33 N; R50-53	T+; N R: 26/27/28-33-50/53 S: (1/2-)13-28-36-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R26/27/28-33-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26/27/28-33-51/53 0,5 % ≤ C < 2,5 %: T+; R26/27/28-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R23/24/25-33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R23/24/25-33 0,05 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/21/22-33	1
082-001-00-6	ενώσεις μολύβδου εκτός από αυτές που ρητώς κατονομάζονται σ' άλλο σημείο στο παρόν παράρτημα	AE	-	-	Repr. Cat. 1; R61 Repr. Cat. 3; R62 Xn; R20/22 R33 N; R50-53	T; N R: 61-20/22-33-62-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R61-20/22-33-62-50/53 5 % ≤ C < 25 %: T, N; R61-20/22-33-62-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: T, N; R61-20/22-33-62-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R61-20/22-33-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R61-33-52/53	1

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
							0,25 % ≤ C < 0,5 %: R52/53	
082-002-00-1	αλκυλικές ενώσεις μολύβδου	AE	-	-	Repr. Cat. 1; R61 Repr. Cat. 3; R62 T+; R26/27/28 R33 N; R50-53	T+; N R: 61-26/27/28-33-62-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R61-26/27/28-33-62-50/53 5 % ≤ C < 25 %: T+, N; R61-26/27/28-33-62-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: T+, N; R61-26/27/28-33-51/53 0,5 % ≤ C < 2,5 %: T+; R61-26/27/28-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R61-26/27/28-33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R61-23/24/25-33 0,05 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/21/22-33	1
601-010-00-3	αιθυλένιο		200-815-3	74-85-1	F+; R12 R67	F+ R: 12-67 S: (2-)9-16-33-46		
601-014-00-5	ισοπρένιο (σταθεροποιημένο) 2-μεθυλο-1,3-βουταδιένιο	D	201-143-3	78-79-5	F+; R12 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 R52-53	F+; T R: 45-12-68-52/53 S: 53-45-61		
601-017-00-1	κυκλοεξάνιο		203-806-2	110-82-7	F; R11 Xn; R65 Xi; R38 R67 N; R50-53	F; Xn; N R: 11-38-65-67-50/53 S: (2-)9-16-25-33-60-61-62		4 6
601-020-00-8	βενζόλιο	E	200-753-7	71-43-2	F; R11 Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46 T; R48/23/24/25 Xn; R65 Xi; R36/38	F; T R: 45-46-11-36/38-48/23/24/25-65 S: 53-45		
601-021-00-3	τολουόλιο		203-625-9	108-88-3	F; R11 Repr.Cat.3; R63 Xn; R48/20-65 Xi; R38 R67	F; Xn R: 11-38-48/20-63-65-67 S: (2-)36/37-62-46		4, 6
601-025-00-5	Μεσιτυλένιο 1,3,5-τριμεξυλοβενζόλιο		203-604-4	108-67-8	R10 Xi; R37 N; R51-53	Xi; N R: 10-37-51/53 S: (2-)61	C ≥ 25 %: Xi, N; R37-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: R52/53	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
601-027-00-6	2-φαινυλοπροπένιο α-μεθυλοστυρόλιο		202-705-0	98-83-9	R10 Xi; R36/37 N; R51-53	Xi; N R: 10-36/37-51/53 S: (2-)61	C ≥ 25 %: Xi, N; R36/37-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: R52/53	
601-028-00-1	2-μεθυλοστυρόλιο 2-βινυλοτολουόλιο		210-256-7	611-15-4	Xn; R20 N; R51-53	Xn; N R: 20-51/53 S: (2-)24-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: R52/53	
601-032-00-3	βενζο[def]χρυσένιο βενζο(α)πυρένιο		200-028-5	50-32-8	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 R43 N; R50-53	T; N R: 45-46-60-61-43-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R43-45-46-50-53-60-61 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R43-45-46-51-53-60-61 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R43-45-46-52-53-60-61 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-52-53-60-61 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-52-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	
601-037-00-0	n-εξάνιο		203-777-6	110-54-3	F; R11 Repr. Cat. 3; R62 Xn; R65-48/20 Xi; R38 R67 N; R51-53	F; Xn; N R: 11-38-48/20-62-65-67-51/53 S: (2-)9-16-29-33-36/37-61-62	C ≥ 25 %: Xn, N; R38-48/20-62-51/53 20 % ≤ C < 25 %: Xn; R38-48/20-62-52/53 5 % ≤ C < 20 %: Xn; R48/20-62-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: R52/53	4 6
601-041-00-2	διβενζο(α,h)ανθρακένιο		200-181-8	53-70-3	Carc. Cat. 2; R45 N; R50-53	T; N R: 45-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R45-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R45-51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-52/53 0,01 % ≤ C < 0,25 %: T; R45	
601-048-00-0	χρυσένιο		205-923-4	218-01-9	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 N; R50-53	T; N R: 45-68-50/53 S: 53-45-60-61		
601-052-00-2	ναφθαλίνιο		202-049-5	91-20-3	Carc. Cat.3; R40 Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-40-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61		
601-053-00-8	-νονυλφαινόλη [1] 4-νονυλφαινόλη, διακλαδισμένη		246-672-0 [1] 284-325-5 [2]	25154-52-3 [1] 84852-15-3 [2]	Repr.Cat.3; R62 Repr.Cat.3; R63 Xn; R22 C; R34 N; R50-53	C; N R: 22-34-62-63-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-46-60-61		
602-003-00-8	διβρωμομεθάνιο		200-824-2	74-95-3	Xn; R20 R52-53	Xn R: 20-52/53 S: (2-)24-61	C ≥ 25 %: Xn; R20-52/53 12,5 % ≤ C < 25 %: Xn; R20	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
602-008-00-5	τεραχλωράνθρακας τετραχλωρομεθάνιο		200-262-8	56-23-5	Carc. Cat. 3; R40 T; R23/24/25-48/23 R52-53 N; R59	T; N R: 23/24/25-40-48/23-59-52/53 S: (1/2-)23-36/37-45-59-61	C ≥ 25 %: T, N; R23/24/25-40-48/23-52/53-59 1 % ≤ C < 25 %: T, N; R23/24/25-40-48/23-59 0,2 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20/21/22-48/20-59 0,1 % ≤ C < 0,2 %: N; R59	
602-010-00-6	1,2-διβρωμοαιθάνιο	E	203-444-5	106-93-4	Carc. Cat. 2; R45 T; R23/24/25 Xi; R36/37/38 N; R51-53	T; N R: 45-23/24/25-36/37/38-51/53 S: 53-45-61	C ≥ 25 %: T, N; R45-23/24/25-36/37/38-51/53 20 % ≤ C < 25 %: T, N; R45-23/24/25-36/37/38-52/53 2,5 % ≤ C < 20 %: T, N; R45-23/24/25-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-23/24/25 0,1 % ≤ C < 1 %: T; R45-20/21/22	
602-011-00-1	1,1-διχλωροαιθάνιο		200-863-5	75-34-3	F; R11 Xn; R22 Xi; R36/37 R52-53	F; Xn R: 11-22-36/37-52/53 S: (2-)16-23-61	C ≥ 25 %: Xn; R22-36/37-52/53 20 % ≤ C < 25 %: Xn; R22-36/37 12,5 % ≤ C < 20 %: Xn; R22	
602-014-00-8	1,1,2-τριχλωροαιθάνιο		201-166-9	79-00-5	Carc.Cat.3; R40 Xn; R20/21/22 R66	Xn R: 20/21/22-40-66 S: (2-)9-36/37-46	C ≥ 5 %: Xn; R20/21/22	
602-015-00-3	1,1,2,2-τετραχλωροαιθάνιο		201-197-8	79-34-5	T+; R26/27 N; R51-53	T+; N R: 26/27-51/53 S: (1/2-)38-45-61	C ≥ 25 %: T+, N; R26/27-51/53 7 % ≤ C < 25 %: T+; R26/27-52/53 2,5 % ≤ C < 7 %: T; R23/24-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R23/24 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/21	
602-016-00-9	1,1,2,2-τετραβρωμοαιθάνιο		201-191-5	79-27-6	T+; R26 Xi; R36 R52-53	T+ R: 26-36-52/53 S: (1/2-)24-27-45-61	C ≥ 25 %: T+; R26-36-52/53 20 % ≤ C < 25 %: T+; R26-36 7 % ≤ C < 20 %: T+; R26 1 % ≤ C < 7 %: T; R23 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20	
602-017-00-4	πενταχλωροαιθάνιο		200-925-1	76-01-7	Carc. Cat. 3; R40 T; R48/23 N; R51-53	T; N R: 40-48/23-51/53 S: (1/2-)23-36/37-45-61	C ≥ 25 %: T, N; R40-48/23-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T; R40-48/23-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R40-48/23 0,2 % ≤ C < 1 %: Xn; R48/20	
602-019-00-5	1-βρωμοπροπάνιο προπυλοβρωμίδιο		203-445-0	106-94-5	F; R11 Rep. Cat. 2; R60 Rep. Cat. 3; R63 Xn; R48/20	T; F R: 60-11-36/37/38-48/20-63-67 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
					Xi; R36/37/38 R67			
602-025-00-8	1,1-διχλωροαιθυλένιο βινυλιδενοχλωρίδιο	D	200-864-0	75-35-4	F; R12 Carc.Cat.3; R40 Xn; R20	F+; Xn R: 12-20-40 S: (2-)7-16-29-36/37-46	C ≥ 12,5 %: Xn; R20-40 1 % ≤ C < 12,5 %: Xn; R40	
602-026-00-3	1,2-διχλωροαιθυλένιο [1] *cis*-διχλωροαιθυλένιο [2] trans-διχλωροαιθυλένιο [3]	C	208-750-2 [1] 205-859-7 [2] 205-860-2 [3]	540-59-0 [1] 156-59-2 [2] 156-60-5 [3]	F; R11 Xn; R20 R52-53	F; Xn R: 11-20-52/53 S: (2-)7-16-29-61	C ≥ 25 %: Xn; R20-52/53 12,5 % ≤ C < 25 %: Xn; R20	
602-029-00-X	3-χλωροπροπένιο αλλυλοχλωρίδιο	D	203-457-6	107-05-1	F; R11 Carc.Cat.3; R40 Muta.Cat.3; R68 Xn; R20/21/22-48/20 Xi; R36/37/38 N; R50	F; Xn; N R: 11-20/21/22-36/37/38-40-48/20-68-50 S: (2-)16-25-26-36/37-46-61		
602-033-00-1	χλωροβενζόλιο		203-628-5	108-90-7	R10 Xn; R20 N; R51-53	Xn; N R: 10-20-51/53 S: (2-)24/25-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20-51/53 5 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: R52/53	
602-034-00-7	1,2-διχλωροβενζόλιο ο-διχλωροβενζόλιο		202-425-9	95-50-1	Xn; R22 Xi; R36/37/38 N; R50-53	Xn; N R: 22-36/37/38-50/53 S: (2-)23-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-36/37/38-50/53 20 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-36/37/38-51/53 5 % ≤ C < 20 %: Xn, N; R22-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53	
602-035-00-2	1,4-διχλωροβενζόλιο π-διχλωροβενζόλιο		203-400-5	106-46-7	Xi; R36 Carc. Cat. 3; R40 N; R50-53	Xn; N R: 36-40-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61		
602-036-00-8	2-χλωρο-1,3-βουταδιένιο χλωροπρένιο (σταθεροποιημένο)	D E	204-818-0	126-99-8	F; R11 Carc. Cat. 2; R45 Xn; R20/22-48/20 Xi; R36/37/38	F; T R: 45-11-20/22-36/37/38-48/20 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
602-039-00-4	πολυχλωροδιφαινύλια PCB	C	215-648-1	1336-36-3	R33 N; R50-53	Xn; N R: 33-50/53 S: (2-)35-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R33-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R33-51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: Xn, N; R33-52/53 0,005 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R33	
602-043-00-6	γ-HCH ή γ BHC γ-1,2,3,4,5,6- εξαχλωροκυκλοεξάνιο λιντάν		200-401-2	58-89-9	T; R25 Xn; R20/21-48/22 R64 N; R50-53	T; N R: 20/21-25-48/22-64-50/53 S: (1/2-)36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R20/21-25-48/22-64-50-53 10 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-48/22-64-50-53 3 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R22-64-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %: N; R64-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: N; R64-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
602-062-00-X	1,2,3-τριχλωροπροπάνιο	D	202-486-1	96-18-4	Carc. Cat. 2; R45 Repr. Cat. 2; R60 Xn; R20/21/22	T R: 45-60-20/21/22 S: 53-45		
602-073-00-X	1,4-διχλωροβουτ-2-ένιο	E	212-121-8	764-41-0	Carc. Cat. 2; R45 T+; R26 T; R24/25 C; R34 N; R50-53	T+; N R: 45-24/25-26-34-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R45-24/25-26-34-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R45-21/22-26-34-51/53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R45-21/22-26-36/37/38-51/53 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-21/22-23-36/37/38-51/53 3 % ≤ C < 5 %: T, N; R45-21/22-23-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T, N; R45-23-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-23-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: T; R45-20-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-20 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	
603-006-00-7	ισομερή της πεντανόλης, εκτός από αυτές που ρητώς κατονομάζονται σε άλλο σημείο στο παρόν παράρτημα	C	250-378-8	30899-19-5	R10 Xn; R20 Xi; R37 R66	Xn R: 10-20-37-66 S: (2-)46		
603-007-00-2	2-μεθυλο βουτανόλη-2 τριτοταγής πεντανόλη		200-908-9	75-85-4	F; R11 Xn; R20 Xi; R37/38	F; Xn R: 11-20-37/38 S: (2-)46		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
603-029-00-2	2,2-διχλωρο-διαιθυλαιθέρας		203-870-1	111-44-4	R10 Carc.Cat.3; R40 T+; R26/27/28	T+ R: 10-26/27/28-40 S: (1/2-)7/9-27-28-36/37-45	C ≥ 7 %: T+; R26/27/28-40 1 % ≤ C < 7 %: T; R23/24/25-40 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/21/22	
603-030-00-8	2-αμινοαιθανόλη αιθανολαμίν		205-483-3	141-43-5	Xn; R20/21/22 C; R34	C R: 20/21/22-34 S: (1/2-)26-36/37/39-45	C ≥ 25 %: C; R20/21/22-34 10 % ≤ C < 25 %: C; R34 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/37/38	
603-031-00-3	1,2 διμεθοξυαιθάνιο διμεθυλαιθέρας της αιθυλενογλυκόλης EGDME		203-794-9	110-71-4	Repr.Cat.2; R60 Repr.Cat.2; R61 F; R11 R19 Xn; R20	F; T R: 60-61-11-19-20 S: 53-45		
603-054-00-9	κανονικός διβουτυλαιθέρας		205-575-3	142-96-1	R10 Xi; R36/37/38 R52-53	Xi R: 10-36/37/38-52/53 S: (2-)61	C ≥ 10 %: Xi; R36/37/38	
603-063-00-8	2,3-εποξυπροπαν-1-όλη γλυκιδόλη	E	209-128-3	556-52-5	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 2; R60 T; R23 Xn; R21/22 Xi; R36/37/38	T R: 45-60-21/22-23-36/37/38-68 S: 53-45		
603-066-00-4	1-εποξυαιθυλο-3,4-εποξυκυκλοεξάνιο		203-437-7	106-87-6	T; R23/24/25 Xn; R68	T R: 23/24/25-68 S: (1/2-)23-24-45	C ≥ 1 %: T; R23/24/25-68 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/21/22	
603-067-00-X	1,2-εποξυ-3-φαινοξυπροπάνιο	E	204-557-2	122-60-1	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Xn; R20 Xi; R37/38 R43 R52-53	T R: 45-20-37/38-43-68-52/53 S: 53-45-61		
603-070-00-6	2-αμινο-2-μεθυλοπροπανόλη		204-709-8	124-68-5	Xi; R36/38 R52-53	Xi R: 36/38-52/53 S: (2-)61	C ≥ 25 %: Xi; R36/38-52/53 10 % ≤ C < 25 %: Xi; R36/38	
603-074-00-8	προϊόν αντιδράσεως:δις-φαινολο-Α-(επιχλωρυδρίνη) εποξυρητίνη (αριθμητικό μέσο μοριακό βάρος ≤ 700)		500-033-5	25068-38-6	Xi; R36/38 R43 N; R51-53	Xi; N R: 36/38-43-51/53 S: (2-)28-37/39-61	C ≥ 25 %: Xi, N; R36/38-43-51/53 5 % ≤ C < 25 %: Xi; R36/38-43-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xi; R43-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43	
603-076-00-9	βουτ-2-ινο-1,4-διόλη	D	203-788-6	110-65-6	C; R34 T; R23/25 Xn; R21-48/22 R43	C; T R: 21-23/25-34-43-48/22 S: (1/2-)25-26-	C ≥ 50 %: T; R21-23/25-34-48/22-43 25 % ≤ C < 50 %: T; R21-23/25-36/38-48/22-43 10 % ≤ C < 25 %: Xn; R20/22-48/22-43	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
						36/37/39-45-46	3 % ≤ C < 10 %: Xn; R20/22-43 1 % ≤ C < 3 %: R43	
603-095-00-2	2-(προπυλοξυ)αιθανόλη EGPE		220-548-6	2807-30-9	Xn; R21 Xi; R36	Xn R: 21-36 S: (2-)26-36/37-46		
603-105-00-5	furan	E	203-727-3	110-00-9	F+; R12 R19 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Xn; R20/22-48/22 Xi; R38 R52-53	F+; T R: 45-12-19-20/22-38-48/22-68-52/53 S: 53-45-61		
604-001-00-2	φαινόλη		203-632-7	108-95-2	Muta.Cat.3; R68 T; R23/24/25 Xn; R48/20/21/22 C; R34	T; C R: 23/24/25-34-48/20/21/22-68 S: (1/2-)24/25-26-28-36/37/39-45	C ≥ 10 %: T; R23/24/25-48/20/21/22-34-68 3 % ≤ C < 10 %: C ; Xn ; R20/21/22-34-68 1 % ≤ C < 3 %: Xn ; R36/38-68	
604-009-00-6	πυρογαλλόλη 1,2,3-τριϋδροξυβενζόλιο		201-762-9	87-66-1	Muta. Cat. 3; R68 Xn; R20/21/22 R52-53	Xn R: 20/21/22-68-52/53 S: (2-)36/37-61	C ≥ 25 %: Xn; R20/21/22-68-52/53 10 % ≤ C < 25 %: Xn; R20/21/22-68 1 % ≤ C < 10 %: Xn; R68	
604-010-00-1	1,3-διυδροξυβενζόλιο ρεσορκινόλη		203-585-2	108-46-3	Xn; R22 Xi; R36/38 N; R50	Xn; N R: 22-36/38-50 S: (2-)26-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-36/38-50 20 % ≤ C < 25 %: Xn; R22-36/38 10 % ≤ C < 20 %: Xn; R22	
604-012-00-2	4-χλωρο-ο-κρεζόλη		216-381-3	1570-64-5	T;R23 C;R35 N;R50	T;C;N R: 23-35-50 S: (1/2)26-36/37/39-45-61	C ≥ 25 %: T, C, N; R23-35-50 10 % ≤ C < 25 %: C; R20-35 5 % ≤ C < 10 %: C; R20-34 3 % ≤ C < 5 %: Xn; R20-36/37/38 1 % ≤ C < 3 %: Xi; R36/37/38	
604-013-00-8	2,3,4,6-τετραχλωροφαινόλη		200-402-8	58-90-2	T; R25 Xi; R36/38 N; R50-53	T; N R: 25-36/38-50/53 S: (1/2-)26-28-37-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R25-36/38-50/53 5 % ≤ C < 20 %: T, N; R25-36/38-51/53 20 % ≤ C < 25 %: T, N; R25-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R22-51/53 0,5 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R22-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: R52/53	
604-014-00-3	χλωροκρεζόλη		200-431-6	59-50-7	Xn; R21/22 Xi; R41 R43 N; R50	Xn; N R: 21/22-41-43-50 S: (2-)26-36/37/39-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R21/22-41-43-50 10 % ≤ C < 25 %: Xn; R21/22-41-43 5 % ≤ C < 10 %: Xn; R21/22-36-43 1 % ≤ C < 5 %: Xi; R43	
604-015-00-9	2,2'-μεθυλενο-δις-(3,4,6-		200-733-8	70-30-4	T; R24/25	T; N	C ≥ 25 %: T, N; R24/25-50/53	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	τριχλωροφαινόλη) εξαχλωροφαίνιο				N; R50-53	R: 24/25-50/53 S: (1/2-)20-37-45-60-61	2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R24/25-51/53 2 % ≤ C < 2,5 %: T; R24/25-52/53 0,25 % ≤ C < 2 %: Xn; R21/22-52/53 0,2 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R21/22	
604-017-00-X	2,4,5-τριχλωροφαινόλη		202-467-8	95-95-4	Xn; R22 Xi; R36/38 N; R50-53	Xn; N R: 22-36/38-50/53 S: (2-)26-28-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-36/38-50/53 20 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-36/38-51/53 5 % ≤ C < 20 %: Xn, N; R36/38-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53	
604-030-00-0	Bisphenol A 4,4'-ισοπροπυλιδενοδιφαινόλη		201-245-8	80-05-7	Repr. Cat. 3; R62 Xi; R37-41 R43	Xi R: 37-41-43-62 S: (2-)26-36/37-39-46		
605-002-00-0	1,3,5-τριοξάνιο τριοξυμεθυλένιο		203-812-5	110-88-3	F; R11 Repr.Cat.3; R63 Xi; R37	F; Xn R: 11-37-63 S: (2-)36/37-46		
605-016-00-7	γλυοξάλη ...%	B	203-474-9	107-22-2	Muta. Cat. 3; R68 Xn; R20 Xi; R36/38 R43	Xn R: 20-36/38-43-68 S: (2-)36/37	C ≥ 10 %: Xn; R20-36/38-43-68 1 % ≤ C < 10 %: Xn; R43-68	
605-020-00-9	safrole 5-αλλυλο-1,3-βενζοδιοξόλη	E	202-345-4	94-59-7	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Xn; R22	T R: 45-22-68 S: 53-45		
605-022-00-X	γλουταραλδεϋδη		203-856-5	111-30-8	T; R23/25 C; R34 R42/43 N; R50	T; N R: 23/25-34-42/43-50 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61	C ≥ 50 %: T, N; R23/25-34-42/43-50 25 % ≤ C < 50 %: T; R22-23-34-42/43 10 % ≤ C < 25 %: C; R20/22-34-42/43 2 % ≤ C < 10 %: Xn; R20/22-37/38-41-42/43 1 % ≤ C < 2 %: Xn; R36/37/38-42/43 0,5 % ≤ C < 1 %: Xi; R36/37/38-43	
605-025-00-6	χλωροακεταλδεύδη		203-472-8	107-20-0	Carc. Cat. 3; R40 T+; R26 T; R24/25 C; R34	T+; N R: 24/25-26-34-40-50 S: (1/2-)26-28-	C ≥ 25 %: T+, N; R24/25-26-34-40-50 10 % ≤ C < 25 %: T+; R21/22-26-34-40 7 % ≤ C < 10 %: T+; R21/22-26-36/37/38-40	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
					N; R50	36/37/39-45-61	5 % ≤ C < 7 %: T; R21/22-23-36/37/38-40 3 % ≤ C < 5 %: T; R21/22-23-40 1 % ≤ C < 3 %: T; R23-40 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20	
606-037-00-4	triadimefon (ISO) 1-(4-χλωροφαινοξυ)-3,3-διμεθυλο-1-(1,2,4-τριαζωλ-1-υλο)βουτανόνη		256-103-8	43121-43-3	Xn; R22 R43 N; R51-53	Xn; N R: 22-43-51/53 S: (2-)24-37-61		
606-048-00-4	2'-ανιλινο-3'-μεθυλο-6'-διπεντυλαμινοσπειρο(ισοβενζοφουρανο-1(1*H*),9'-ξανθενο)-3-όνη		406-480-1	-	R53	R: 53 S: 61		
607-004-00-7	τριχλωροξικό οξύ		200-927-2	76-03-9	C; R35 N; R50-53	C; N R: 35-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: C, N; R35-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R35-51/53 5 % ≤ C < 10 %: C, N; R34-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xi, N; R36/37/38-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R36/37/38-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	
607-019-00-9	χλωρομυρμηκικός μεθυλεστέρας		201-187-3	79-22-1	F; R11 T+; R26 Xn; R21/22 C; R34	F; T+ R: 11-21/22-26-34 S: (1/2-)26-14-28-36/37-39-36/37/39-45-46-63		
607-049-00-2	-mecoprop (ISO) [1] και τα άλατά του 2-(4-χλωρο-ο-τολυλοξυ) προπιονικό οξύ, (*RS*)-2-(4-χλωρο-ο-τολυλοξυ) προπιονικό οξύ [1] 2-(4 χλωρο-2-μεθυλοφαινοξυ) προπιονικό οξύ [2]		230-386-8 [1] 202-264-4 [2]	7085-19-0 [1] 93-65-2 [2]	Xn; R22 Xi; R38-41 N; R50-53	Xn; N R: 22-38-41-50/53 S: (2-)13-26-37/39-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-38-41-50-53 20 % ≤ C < 25 %: Xi, N; R38-41-50-53 10 % ≤ C < 20 %: Xi, N; R41-50-53 5 % ≤ C < 10 %: Xi, N; R37-50-53 0,25 % ≤ C < 5 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
607-053-00-4	MCPB (ISO) 4-(4-χλωρο-ο-τολυλοξυ)βουτυρικό οξύ		202-365-3	94-81-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-061-00-8	ακρυλικο οξύ	D	201-177-9	79-10-7	R10 Xn; R20/21/22 C; R35 N; R50	C; N R: 10-20/21/22-35-50 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61	C ≥ 25 %: C, N; R20/21/22-35-50 10 % ≤ C < 25 %: C; R35 5 % ≤ C < 10 %: C; R34 1 % ≤ C < 5 %: Xi; R36/37/38	
607-064-00-4	χλωρομυρμηκικό βενζύλιο		207-925-0	501-53-1	C; R34 N; R50-53	C; N R: 34-50/53 S: (1/2-)26-45-60-61	C ≥ 25 %: C, N; R34-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R34-51/53 5 % ≤ C < 10 %: Xi, N; R36/37/38-51/53	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
							2,5 % ≤ C < 5 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53	
607-072-00-8	ακρυλικό 2-υδροξυαιθύλιο	D	212-454-9	818-61-1	T; R24 C; R34 R43 N; R50	T; N R: 24-34-43-50 S: (1/2-)26-36/39-45-61	C ≥ 25 %: T; R24-34-43-50 10 % ≤ C < 25 %: T; R24-34-43 5 % ≤ C < 10 %: T; R24-36/38-43 2 % ≤ C < 5 %: T; R24-43 0,2 % ≤ C < 2 %: Xn; R21-43	
607-086-00-4	φθαλικό διαλλύλιο		205-016-3	131-17-9	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)24/25-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53	
607-091-00-1	τριφθοροξικό οξύ . . . %	B	200-929-3	76-05-1	Xn; R20 C; R35 R52-53	C R: 20-35-52/53 S: (1/2-)9-26-27-28-45-61	C ≥ 25 %: C; R20-35-52/53 10 % ≤ C < 25 %: C; R20-35 5 % ≤ C < 10 %: C; R34 1 % ≤ C < 5 %: Xi; R36/38	
607-094-00-8	υπεροξικό οξύ . . . %		201-186-8	79-21-0	R10 O; R7 Xn; R20/21/22 C; R35 N; R50	O; C; N R: 7-10-20/21/22-35-50 S: (1/2-)3/7-14-36/37/39-45-61	C ≥ 25 %: C, N; R20/21/22-35-50 10 % ≤ C < 25 %: C; R20/21/22-35 5 % ≤ C < 10 %: C; R34 1 % ≤ C < 5 %: Xi, R36/37/38	
607-107-00-7	ακρυλικός 2-αιθυλεξυλεστέρας	D	203-080-7	103-11-7	Xi; R37/38 R43	Xn R: 37/38-43 S: (2-)36/37-46	C ≥ 20 %: Xi; R37/38-43 1 % ≤ C < 20 %: Xi; R43	
607-113-00-X	μεθακρυλικό ισοβουτύλιο	D	202-613-0	97-86-9	R10 Xi; R36/37/38 R43 N; R50	Xi; N R: 10-36/37/38-43-50 S: (2-)24-37-61	C ≥ 25 %: Xi, N; R36/37/38-43-50 20 % ≤ C < 25 %: Xi; R36/37/38-43 1 % ≤ C < 20 %: Xi; R43	
607-116-00-6	ακρυλικό κυκλοεξύλιο	D	221-319-3	3066-71-5	Xi; R37/38 N; R51-53	Xi; N R: 37/38-51/53 S: (2-)61	C ≥ 25 %: Xi, N; R37/38-51/53 10 % ≤ C < 25 %: Xi; R37/38-52/53 2,5 % ≤ C < 10 %: R52/53	
607-133-00-9	μονοακρυλικοί ή μονοαρυλικοί ή μονοαλκυλοαρυλο εστέρες του ακρυλικού οξέος πλην των αναφερομένων αλλαχού στο παρόν παράρτημα	A	-	-	Xi; R36/37/38 N; R51-53	Xi; N R: 36/37/38-51/53 S: (2-)26-28-61	C ≥ 25 %: Xi, N; R36/37/38-51/53 10 % ≤ C < 25 %: Xi; R36/37/38-52/53 2,5 % ≤ C < 10 %: R52/53	
607-151-00-7	propargite (ISO) θειώδες 2-(4-τριτβουτυλοφαινοξυ)κυκλοεξύλ προπ-2-υνύλιο		219-006-1	2312-35-8	Carc.Cat.3; R40 T; R23 Xi; R38-41 N; R50-53	T; N R: 23-38-40-41-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R23-38-40-41-50-53 20 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20-38-40-41-50-53 10 % ≤ C < 20 %: Xn, N; R20-40-41-50-53	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
							5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R20-40-36-50-53 3 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R20-40-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %: Xn, N; R40-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn, N; R40-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
607-189-00-4	τριμεθυλενοδιαμινητετραοξικό οξύ		400-400-9	1939-36-2	Xn; R22 Xi; R41 N; R50-53	Xn; N R: 22-41-50/53 S: (2-)22-26-39-60-61		
607-244-00-2	ακρυλικό ισοοκτύλιο		249-707-8	29590-42-9	Xi; R36/37/38 N; R50-53	Xi; N R: 36/37/38-50/53 S: (2-)26-28-60-61	C ≥ 25 %: Xi, N; R36/37/38-50/53 10 % ≤ C < 25 %: Xi, N; R36/37/38-51/53 2,5 % ≤ C < 10 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53	
607-245-00-8	ακρυλικό τερτ-βουτύλιο	D	216-768-7	1663-39-4	F; R11 Xn; R20/21/22 Xi; R37/38 R43 N; R52-53	F; Xn R: 11-20/21/22-37/38-43-52/53 S: (2-)16-25-37-61	C ≥ 25 %: Xn; R20/21/22-37/38-43-52-53 20 % ≤ C < 25 %: Xi; R37/38-43 1 % ≤ C < 20 %: Xi; R43	
607-247-00-9	μεθακρυλικό δωδεκύλιο		205-570-6	142-90-5	Xi; 36/37/38 N; R50-53	Xi; N R: 36/37/38-50/53 S: (2-)26-28-60-61	C ≥ 25 %: Xi, N; R36/37/38-50/53 10 % ≤ C < 25 %: Xi, N; R36/37/38-51/53 2,5 % ≤ C < 10 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,50 %: R52/53	
607-249-00-X	διακρυλικό (1-μεθυλ-1,2-αιθανοδιυλο)δις[οξυ(μεθυλ-2,1-αιθανοδιύλιο)]		256-032-2	42978-66-5	Xi; R36/37/38 R43 N; R51-53	Xi; N R: 36/37/38-43-51/53 S: (2-)24-37-61	C ≥ 25 %: Xi, N; R36/37/38-43-51/53 10 % ≤ C < 25 %: Xi; R36/37/38-43-52/53 2,5 % ≤ C < 10 %: Xi; R43-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43	
608-003-00-4	ακρυλονιτρίλιο	D E	203-466-5	107-13-1	F; R11 Carc. Cat. 2; R45 T; R23/24/25 Xi; R37/38-41 R43 N; R51-53	F; T; N R: 45-11-23/24/25-37/38-41-43-51/53 S: 9-16-53-45-61	C ≥ 25 %: T, N; R45-23/24/25-37/38-41-43-51/53 20 % ≤ C < 25 %: T; R45-23/24/25-37/38-41-43-52/53 10 % ≤ C < 20 %: T; R45-23/24/25-41-43-52/53 5 % ≤ C < 10 %: T; R45-23/24/25-36-43-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: T; R45-23/24/25-43-52/53	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
							1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-23/24/25-43 0,2 % ≤ C < 1 %: T; R45-20/21/22 0,1 % ≤ C < 0,2 %: T; R45	
608-006-00-0	bromoxynil (ISO) και τα άλατά του 3,5-διβρωμο-4-υδροξυβενζονιτρίλιο bromoxynil phenol		216-882-7	1689-84-5	Repr. Cat. 3; R63 T+; R26 T; R25 R43 N; R50-53	T+; N R: 25-26-43-63-50/53 S: (1/2-)27/28-36/37-45-63-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R25-26-43-63-50-53 7 % ≤ C < 25 %: T+, N; R22-26-43-63-50-53 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R22-23-43-63-50-53 3 % ≤ C < 5 %: T, N; R22-23-43-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %: T, N; R23-43-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: T, N; R23-43-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20-51-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20-52-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: R52-53	
608-007-00-6	ioxynil (ISO) και τα άλατά του 4-υδροξυ-3,5-διωδοβενζονιτρίλιο		216-881-1	1689-83-4	Repr. Cat. 3; R63 T; R23/25 Xn; R21-48/22 Xi; R36 N; R50-53	T; N R: 21-23/25-36-48/22-63-50/53 S: (1/2-)36/37-45-60-61-63	C ≥ 25 %: T, N; R21-23/25-36-48/22-63-50-53 20 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20/22-36-48/22-63-50-53 10 % ≤ C < 20 %: Xn, N; R20/22-48/22-63-50-53 5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R20/22-63-50-53 3 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R20/22-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %: N; R50-53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
608-010-00-2	2-μεθυλο-2-προπενονιτρίλιο μεθακρυλονιτρίλιο	D	204-817-5	126-98-7	F; R11 T; R23/24/25 R43	F; T R: 11-23/24/25-43 S: (1/2-)9-16-18-29-45	0,2 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/21/22-43 C ≥ 1 %: T; R23/24/25-43	
608-014-00-4	chlorothalonil (ISO) τετραχλωροϊσοφθαλονιτρίλιο		217-588-1	1897-45-6	Carc. Cat. 3; R40 T+; R26 Xi; R41 Xi; R37 R43 N; R50-53	T+; N R: 26-37-40-41-43-50/53 S: (2-)28-36/37/39-45-60-61	C ≥ 20 %: T+, N; R26-37-40-41-43-50-53 10 % ≤ C < 20 %: T+, N; R26-40-41-43-50-53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R26-40-36-43-50-53 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R23-40-36-43-50-53 2,5 % ≤ C < 5 %: T, N; R23-40-43-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: T, N; R23-40-43-51-53 0,25 % ≤ C < 1: Xn, N; R20-51-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20-52-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: R52-53	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
608-017-00-0	bromoxynil octanoate (ISO) οκτανοϊκός 2,6-διβρωμο-4-κυανοφαινυλεστέρας		216-885-3	1689-99-2	Repr. Cat. 3; R63 T; R23 Xn; R22 R43 N; R50-53	T; N R: 22-23-43-63-50/53 S: (1/2-)36/37-45-63-60-61	1 % ≤ C < 2,5 %: N; R43-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R51-53 C ≥ 25 %: T, N; R22-23-43-63-50-53 5 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20-43-63-50-53 3 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R20-43-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %: N; R43-50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
608-018-00-6	ionyxil octanoate (ISO) οκτανοϊκός 4-κυανο-2,6-διωδοφαινυλεστέρας		223-375-4	3861-47-0	Repr. Cat. 3; R63 T; R25 Xi; R36 R43 N; R50-53	T; N R: 25-36-43-63-50/53 S: (1/2-)26-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R25-36-43-63-50-53 20 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-36-43-63-50-53 5 % ≤ C < 20 %: Xn, N; R22-43-63-50-53 3 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R22-43-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %: N; R43-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: N; R43-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
608-021-00-2	3-(2-(διαμινομεθυλέναμινο)θειαζολ-4-υλομεθυλοθειο)προπιονονιτρίλιο		403-710-2	76823-93-3	Xn; R22 R43	Xn R: 22-43 S: (2-)22-24-37		
609-007-00-9	2,4-δινιτροτολουόλιο δινιτροτολουόλιο, τεχνικής καθαρότητας [1] δινιτροτολουόλιο [2]	E	204-450-0 [1] 246-836-1 [2]	121-14-2 [1] 25321-14-6 [2]	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 N; R51-53	T; N R: 45-23/24/25-48/22-62-68-51/53 S: 53-45-61		
609-023-00-6	dinocap (ISO)	E	254-408-0	39300-45-3	Repr. Cat. 2; R61 Xn; R20-48/22 Xi; R38 R43 N; R50-53	T; N R: 61-20-22-38-43-48/22-50/53 S: 53-45-60-61		
609-043-00-5	quintozene (ISO) πενταχλωρονιτροβενζόλιο		201-435-0	82-68-8	R43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)13-24-37-60-61		
609-049-00-8	2,6-δινιτροτολουόλιο	E	210-106-0	606-20-2	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62 T; R23/24/25	T R: 45-23/24/25-48/22-62-68-52/53 S: 53-45-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
					Xn; R48/22 R52-53			
609-050-00-3	2,3-δινιτροτολουόλιο	E	210-013-5	602-01-7	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 N; R50-53	T; N R: 45-23/24/25-48/22-62-68-50/53 S: 53-45-60-61		
609-051-00-9	3,4-δινιτροτολουόλιο	E	210-222-1	610-39-9	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 N; R51-53	T; N R: 45-23/24/25-48/22-62-68-51/53 S: 53-45-61		
609-052-00-4	3,5-δινιτροτολουόλιο	E	210-566-2	618-85-9	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 R52-53	T R: 45-23/24/25-48/22-62-68-52/53 S: 53-45-61		
609-055-00-0	2,5-δινιτροτολουόλιο	E	210-581-4	619-15-8	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 N; R51-53	T; N R: 45-23/24/25-48/22-62-68-51/53 S: 53-45-61		
609-056-00-6	2,2-διβρωμο-2-νιτροαιθανόλη		412-380-9	69094-18-4	E; R2 Carc. Cat. 3; R40 Xn; R22-48/22 C; R35 R43 N; R50-53	E; C; N R: 2-22-35-40-43-48/22-50/53 S: (1/2-)23-26-35-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: C, N; R22-35-40-43-48/22-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R22-35-40-43-48/22-51/53 5 % ≤ C < 10 %: C, N; R34-40-43-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R36/37/38-40-43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R36/37/38-40-43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	
610-005-00-5	1-χλωρο-4-νιτροβενζόλιο		202-809-6	100-00-5	Carc.Cat.3;R40 Mut.Cat.3;R68 T; R23/24/25 Xn; R48/20/21/22 N; R51-53	T; N R: 23/24/25-40-48/20/21/22-68-51/53 S: (1/2-)28-36/37-45-		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
						61		
611-001-00-6	αζωβενζόλιο	E	203-102-5	103-33-3	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Xn; R20/22-48/22 N; R50-53	T; N R: 45-20/22-48/22-68-50/53 S: 53-45-60-61		
611-060-00-8	Μίγμα από: 5-[8-[4-[4-[4-[7-(3,5-δικαρβοξυλικοφαινυλαζω)-8-υδροξυ-3,6-δισουλφονικοναφθαλεν-1-υλαμινο]-6-υδροξυ-[1,3,5]-τριαζιν-2-υλο]-2,5-διμεθυλοπιπεραζιν-1-υλο]-6-υδροξυ-[1,3,5]-τριαζιν-2-υλαμινο]-1-υδροξυ-3,6-δισουλφονικοναφθαλεν-2-υλαζω]-ισοφθαλικό νάτριο 5-[8-[4-[4-[4-[7-(3,5-δικαρβοξυλικοφαινυλαζω)-8-υδροξυ-3,6-δισουλφονικοναφθαλεν-1-υλαμινο]-6-υδροξυ-1,3,5-τριαζιν-2-υλο]-2,5-διμεθυλοπιπεραζιν-1-υλο]-6-υδροξυ-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο]-1-υδροξυ-3,6-δισουλφονικοναφθαλεν-2-υλαζω]-ισοφθαλικό αμμώνιο; 5-[8-[4-[4-[4-[7-(3,5-δικαρβοξυλικοφαινυλαζω)-8-υδροξυ-3,6-δισουλφονικοναφθαλεν-1-υλαμινο]-6-υδροξυ-1,3,5-τριαζιν-2-υλο]-2,5-διμεθυλοπιπεραζιν-1-υλο]-6-υδροξυ-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο]-1-υδροξυ-3,6-δισουλφονικοναφθαλεν-2-υλαζω]-ισοφθαλικό οξύ		413-180-4	-	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
611-063-00-4	τρινάτριος [4'-(8-ακετυλαμινο-3,6-δισουλφονικο-2-ναφθυλαζω)-4"-(6-βενζοϋλαμινο-3-σουλφονικο-2-ναφθυλαζω)-διφαινυλο-1,3',3",1'"-τετραολικός-*O,O',O",O'"*]χαλκός(II)		413-590-3	164058-22-4	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
612-008-00-7	ανιλίνη		200-539-3	62-53-3	Carc. Cat. 3; R40	T; N	C ≥ 25 %: T, N; R23/24/25-40-41-43-	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
					Muta.Cat.3; R68 T; R23/24/25-48/23/24/25 Xi; R41 R43 N; R50	R: 23/24/25-40-41-43-48/23/24/25-68-50 S: (1/2-)26-27-36/37/39-45-46-61-63	48/23/24/25-50-68 10 % ≤ C < 25 %: T; R20/21/22-40-41-43-48/23/24/25-68 1 % ≤ C < 10 %: T; R20/21/22-40-43-48/23/24/25-68 0,2 % ≤ C < 1 %: Xn; R48/20/21/22	
612-009-00-2	άλατα ανιλίνης	A	-	-	Carc. Cat. 3; R40 Muta. Cat. 3; R68 T; R23/24/25 Xi; R41 R43 N; R50	T; N R: 23/24/25-40-41-43-48/23/24/25-68-50 S: (1/2-)26-27-36/37/39-45-61-63	C ≥ 25 %: T, N; R23/24/25-40-41-43-48/23/24/25-50-68 10 % ≤ C < 25 %: T; R20/21/22-40-41-43-48/23/24/25-68 1 % ≤ C < 10 %: T; R20/21/22-40-43-48/23/24/25-68 0,2 % ≤ C < 1 %: Xn; R48/20/21/22	
612-010-00-8	χλωροανιλίνες (εξαιρουμένων εκείνων που αναφέρονται σε άλλα σημεία του παρόντος Παραρτήματος)	C	-	-	T; R23/24/25 R33 N; R50-53	T; N R: 23/24/25-33-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61		
612-022-00-3	2-ναφθυλαμίνη	E	202-080-4	91-59-8	Carc. Cat. 1; R45 Xn; R22 N; R51-53	T; N R: 45-22-51/53 S: 53-45-61	C ≥ 25 %: T, N; R45-22-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T; R45-52/53 0,01 % ≤ C < 2,5 %: T; R45	
612-023-00-9	-φαινυλυδραζίνη [1] Χλωρίδιο της φαινυλυδραζίνης [2] Υδροχλωρικήφαινυλυδραζίνη [3] Θειικήφαινυλυδραζίνη (2:1) [4]	E	202-873-5 [1] 200-444-7 [2] 248-259-0 [3] 257-622-2 [4]	100-63-0 [1] 59-88-1 [2] 27140-08-5 [3] 52033-74-6 [4]	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 T; R23/24/25-48/23/24/25 Xi; R36/38 R43 N; R50	T; N R: 45-23/24/25-36/38-43-48/23/24/25-68-50 S: 53-45-61		
612-025-00-X	νιτροτολουιδίνες με εξαίρεση αυτών που αναφέρονται σε άλλα σημεία του παραρτήματος	C	-	-	T; R23/24/25 R33 N; R51-53	T; N R: 23/24/25-33-51/53 S: (1/2-)28-36/37-45-61		
612-035-00-4	2-μεθοξυανιλίνη *o*-ανισιδίνη	E	201-963-1	90-04-0	Carc. Cat. 2; R45 Muta Cat. 3; R68 T; R23/24/25	T R: 45-23/24/25-68 S: 53-45		
612-042-00-2	βενζιδίνη 4,4'-διαμινοδιφαινύλιο 1,1΄-διφαινυλο-4,4΄ διαμίνη διφαινυλο-4,4΄-υλενοδιαμίνη	E	202-199-1	92-87-5	Carc. Cat. 1; R45 Xn; R22 N; R50-53	T; N R: 45-22-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R45-22-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R45-51/53 0,01 % ≤ C < 2,5 %: T; R45	
612-051-00-1	4,4'-διαμινοδιφαινυλομεθάνιο	E	202-974-4	101-77-9	Carc. Cat. 2; R45	T; N		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
	4,4'-μεθυλενοδιανιλίνη				Muta. Cat. 3; R68 T; R39/23/24/25 Xn; R48/20/21/22 R43 N; R51-53	R: 45-39/23/24/25-43-48/20/21/22-68-51/53 S: 53-45-61		
612-054-00-8	*N,N*-διαιθυλανιλίνη		202-088-8	91-66-7	T; R23/24/25 R33 N; R51-53	T; N R: 23/24/25-33-51/53 S: (1/2-)28-37-45-61	C ≥ 25 %: T, N; R23/24/25-33-51/53 5 % ≤ C < 25 %: T; R23/24/25-33-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xn; R20/21/22-33-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/21/22-33	
612-056-00-9	*N,N*-διμεθυλο-*p*-τολουιδίνη [1] *N,N*-διμεθυλο-*m*-τολουιδίνη [2] *N,N*-διμεθυλο-*o*-τολουιδίνη [3]	C	202-805-4 [1] 204-495-6 [2] 210-199-8 [3]	99-97-8 [1] 121-72-2 [2] 609-72-3 [3]	T; R23/24/25 R33 R52-53	T R: 23/24/25-33-52/53 S: (1/2-)28-36/37-45-61	C ≥ 25 %: T; R23/24/25-33-52-53 5 % ≤ C < 25 %: T; R23/24/25-33 1 % ≤ C < 5 %: Xn; R20/21/22-33	
612-059-00-5	3,6-διαζαοκτανο-1,8-διαμίνη τριαιθυλενοτετραμίνη		203-950-6	112-24-3	Xn; R21 C; R34 R43 R52-53	C R: 21-34-43-52/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61	C ≥ 25 %: C; R21-34-43-52/53 10 % ≤ C < 25 %: C; R34-43 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/38-43 1 % ≤ C < 5 %: Xi; R43	
612-060-00-0	3,6,9-τριαζαενδεκανο-1,11-διαμίνη τετρααιθυλενοπενταμίνη		203-986-2	112-57-2	Xn; R21/22 C; R34 R43 N; R51-53	C; N R: 21/22-34-43-51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61	C ≥ 25 %: C, N; R21/22-34-43-51/53 10 % ≤ C < 25 %: C; R34-43-52/53 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/38-43-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xi; R43-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43	
612-064-00-2	πενταιθυλενοεξαμίνη 3,6,9,12-τετρααζαδεκατετρανο-1,14-διαμίνη		223-775-9	4067-16-7	C; R34 R43 N; R50-53	C; N R: 34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: C, N; R34-43-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R34-43-51/53 5 % ≤ C < 10 %: Xi, N; R36/38-43-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xi, N; R43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	
612-065-00-8	πολυαιθυλενοπολυαμίνες, εκτός εκείνων που κατονομάζονται σε άλλο σημείο αυτού του παραρτήματος		-	-	Xn; R21/22 C; R34 R43 N; R50-53	C; N R: 21/22-34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: C, N; R21/22-34-43-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R34-43-51/53 5 % ≤ C < 10 %: Xi, N; R36/38-43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	
612-066-00-3	δικυκλοεξυλαμίνη		202-980-7	101-83-7	Xn; R22 C; R34	C; N R: 22-34-50/53	C ≥ 25 %: C, N; R22-34-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R34-51/53	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
					N; R50-53	S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61	2,5 % ≤ C < 10 %: Xi, N; R36/38-51/53 2 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R36/38-52/53 0,25 % ≤ C < 2 %: R52/53	
612-067-00-9	3-αμινομεθυλο-3,5,5-τριμεθυλοκυκλοεξυλαμίνη		220-666-8	2855-13-2	Xn; R21/22 C; R34 R43 R52-53	C R: 21/22-34-43-52/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61	C ≥ 25 %: C; R21/22-34-43-52/53 10 % ≤ C < 25 %: C; R34-43 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/38-43 1 % ≤ C < 5 %: Xi; R43	
612-077-00-3	διμεθυλονιτροζαμίνη	E	200-549-8	62-75-9	Carc. Cat. 2; R45 T+; R26 T; R25-48/25 N; R51-53	T+; N R: 45-25-26-48/25-51/53 S: 53-45-61	C ≥ 25 %: T+, N; R45-25-26-48/25-51/53 10 % ≤ C < 25 %: T+; R45-22-26-48/25-52/53 7 % ≤ C < 10 %: T+; R45-22-26-48/22-52/53 3 % ≤ C < 7 %: T; R45-22-23-48/22-52/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T; R45-23-48/22-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-23-48/22 0,1 % ≤ C < 1 %: T; R45-20 0,001 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	
612-086-00-2	amitraz (ISO) N,N-δις(2,4-ξυλυλιμινομεθυλο)μεθυλαμίνη		251-375-4	33089-61-1	Xn; R22-48/22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-48/22-50/53 S: (2-)22-60-24-61-36/37	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-43-48/22-50-53 10 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R43-48/22-50-53 2,5 % ≤ C < 10 %: N; R43-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: N; R43-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
612-087-00-8	guazatine		236-855-3	13516-27-3	T+; R26 Xn; R21/22 Xi; R37/38-41 N; R50-53	T+; N R: 21/22-26-37/38-41-50/53 S: (1/2-)26-28-36/37/39-38-45-46-60-61-63		
612-094-00-6	υδροχλωρική 4-(4-τριφθορομεθυλο-2-χλωρο)φαινοξυ-2-φθοροανιλίνη		402-190-4	-	T; R48/25 Xn; R22-48/20 Xi; R41 R43 N; R50-53	T; N R: 22-41-43-48/20-48/25-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61		
612-121-00-1	αμίνες, πολυαιθυλενοπολυ-HEPA		268-626-9	68131-73-7	Xn; R21/22 C; R34 R43 N; R50-53	C; N R: 21/22-34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-	C ≥ 25 %: C, N; R21/22-34-43-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R34-43-51/53 5 % ≤ C < 10 %: Xi, N; R36/38-43-51/53	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
						45-60-61	2,5 % ≤ C < 5 %: Xi, N; R43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	
612-136-00-3	*N*-ισοπροπυλο-*N'*-φαινυλο-*p*-φαινυλενοδιαμίνη		202-969-7	101-72-4	Xn; R22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)24-37-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-43-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: Xi, N; R43-51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xi; R43	
612-151-00-5	-διαμινοτολουόλιο [1] τεχνικό προϊόν -μίγμα των [2] και [3] μεθυλο-φαινυλενοδιαμίνη [1] 4- μέθυλο-m-φαινυλενοδιαμίνη [2] 2- μέθυλο-m-φαινυλενοδιαμίνη [3]	E	246-910-3 [1] 202-453-1 [2] 212-513-9 [3]	25376-45-8 [1] 95-80-7 [2] 823-40-5 [3]	Carc. Cat. 2; R45 T; R25 Xn; R20/21 Xi; R36 R43 N; R51-53	T; N R: 45-20/21-25-36-43-51/53 S: 53-45-61		
613-009-00-5	2,4,6-τριχλωρο-1,3,5-τριαζίνη		203-614-9	108-77-0	T+; R26 Xn; R22 C; R34 R43 R14	T+; C R: 14-22-26-34-43 S: (1/2-)26-28-36/37/39-45-46-63	C ≥ 25 %: T+; R22-26-34-43 10 % ≤ C < 25 %: T+; R26-34-43 7 % ≤ C < 10 %: T+; R26-36/37/38-43 5 % ≤ C < 7 %: T; R23-36/37/38-43 1 % ≤ C < 5 %: T; R23-43 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20	
613-011-00-6	amitrole (ISO) 1,2,4-τριαζολ-3-υλαμίνη		200-521-5	61-82-5	Repr.Cat.3; R63 Xn; R48/22 N; R51-53	Xn; N R: 48/22-63-51/53 S: (2-)13-36/37-61		
613-033-00-6	2-μεθυλαζιριδίνη	E	200-878-7	75-55-8	F; R11 Carc. Cat. 2; R45 T+; R26/27/28 Xi; R41 N; R51-53	F; T+; N R: 45-11-26/27/28-41-51/53 S: 53-45-61	C ≥ 25 %: T+, N; R45-26/27/28-41-51/53 10 % ≤ C < 25 %: T+; R45-26/27/28-41-52/53 7 % ≤ C < 10 %: T+; R45-26/27/28-36-52/53 5 % ≤ C < 7 %: T; R45-23/24/25-36-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: T; R45-23/24/25-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-23/24/25 0,1 % ≤ C < 1 %: T; R45-20/21/22 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
613-040-00-4	azaconazole (ISO) 1-{[2-(2,4-διχλωροφαινυλο)-1,3-διοξολαν-2-υλο)μεθυλο)-1H-1,2.4-τριαζόλη		262-102-3	60207-31-0	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)46		
613-043-00-0	σκόνη θειϊκού imazalil (ISO) -υδρογονοθειϊκό 1-[2-(αλλυλοξυ)αιθυλο-2-(2,4-διχλωροφαινυλο)-1H-ιμιδαζόλιο [1] υδρογονοθειϊκό (±)-1-[2-(αλλυλοξυ) αιθυλο-2-(2,4-διχλωροφαινυλο)]-1H-ιμιδαζόλιο [2]		261-351-5 [1] 281-291-3 [2]	58594-72-2 [1] 83918-57-4 [2]	Xn; R22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)24/25-37-46-60-61		
613-048-00-8	carbendazim (ISO) βενζιμιδαζολ-2-υλοκαρβαμιδικός μεθυλεστέρας		234-232-0	10605-21-7	Muta. Cat. 2; R46 Repr.Cat.2; R60-61 N; R50-53	T; N R: 46-60-61-50/53 S: 53-45-60-61		
613-049-00-3	benomyl (ISO) 1-(βουτυλοκαρβαμοϋλο)βενζιμιδαζολ-2-υλοκαρβαμιδικός μεθυλεστέρας		241-775-7	17804-35-2	Muta. Cat. 2; R46 Repr.Cat.2; R60-61 Xi; R37/38 R43 N; R50-53	T; N R: 46-60-61-37/38-43-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 20 %: T, N; R46-60-61-37/38-43-50-53 2,5 % ≤ C < 20 %: T, N; R46-60-61-43-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: T, N; R46-60-61-43-51-53 0,5 % ≤ C < 1 %: T, N; R46-60-61-51-53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T, N; R46-51-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R46-52-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: R52-53	
613-051-00-4	molinate (ISO) θειοϋπερυδροαζεπιν-1-ικός *S*-αιθυλεστέρας		218-661-0	2212-67-1	Carc.Cat3; R40 Repr.Cat3; R62 Xn; R20/22 Xn; R48/22 R43 N; R50-53	T; N R: 20/22-40-43-48/22-63-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20/22-40-43-48/22-62-50-53 10 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R40-43-48/22-62-50-53 5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R40-43-62-50-53 1 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R40-43-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
613-058-00-2	permethrin (ISO) 3-(2,2-διχλωροβινυλ)-2,2-διμεθυλκυκλοπροπανιοκαρβοξυλικό *m*-φαινοξυβενζύλιο		258-067-9	52645-53-1	Xn; R20/22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 20/22-43-50/53 S: (2-)13-24-36/37/39-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20/22-43-50-53 1 % ≤ C < 25 %: N; R43-50-53 0,025 % ≤ C < 1 %: N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
613-075-00-5	5-αιθυλο-5-μεθυλο-1,3-διχλωρομιδαζολιδινο-2,4-διόνη		401-570-7	89415-87-2	O; R8 T; R23 C; R34 Xn; R22 R43 N; R50	O; T; N R: 8-22-23-34-43-50 S: (1/2-)8-26-36/37/39-45-61		
613-088-00-6	1,2-βενζισοθειαζολ-3(2*H*)-όνη		220-120-9	2634-33-5	Xn; R22 Xi; R38-41 R43 N; R50	Xn; N R: 22-38-41-43-50 S: (2-)24-26-37/39-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-38-41-43-50 20 % ≤ C < 25 %: Xi; R38-41-43 10 % ≤ C < 20 %: Xi; R41-43 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36-43 0,05 % ≤ C < 5 %: Xi; R43	
613-112-00-5	2-οκτυλο-2*H*-ισοθειαζολ-3-όνη		247-761-7	26530-20-1	T; R23/24 Xn; R22 C; R34 R43 N; R50-53	T; N R: 22-23/24-34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R22-23/24-34-43-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R20/21-34-43-51/53 5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R20/21-36/38-43-51/53 3 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R20/21-43-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: Xi, N; R43-51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43-52/53 0,05 % ≤ C < 0,25 %: Xi; R43	
613-124-00-0	fenpropimorph cis-4-[3-(*p*-*τριτ*-βουτυλοφαινυλο)-2-μεθυλοπροπυλο]-2,6-διμεθυλομορφολίνη		266-719-9	67564-91-4	Repr. Cat. 3; R63 Xn; R22 Xi; R38 N; R51-53	Xn; N R: 22-38-63-51/53 S: (2-)36/37-46-61		
613-129-00-8	metamitron 4-αμινο-3-μεθυλο-6-φαινυλο-1,2,4-τριαζιν-5-όν		255-349-3	41394-05-2	Xn; R22 N; R50	Xn; N R: 22-50 S: (2-)61		
613-167-00-5	μίγμα των : 5-χλωρο-2-μεθυλο-4-ισοθειαζολιν-3-όνη [EC no. 247-500-7] και 2-μεθυλο-2H-ισοθειαζολ-3-όνη [EC no. 220-239-6] (3:1)		-	55965-84-9	T; R23/24/25 C; R34 R43 N; R50-53	T; N R: 23/24/25-34-43-50/53 S: (2-)26-28-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R23/24/25-34-43-50/53 3 % ≤ C < 25 %: C, N; R20/21/22-34-43-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: C, N; R34-43-51/53 0,6 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R34-43-52/53 0,25 % ≤ C < 0,6 %: Xi; R33/38-43-52/53 0,06 % ≤ C < 0,25 %: Xi; R36/38-43 0,0015 % ≤ C < 0,06 %: Xi; R43	
613-175-00-9	Epoxiconazole (2*RS*, 3*RS*)-3-(2-χλωροφαινυλο)-2-(4-φθοροφαινυλο)-[(1*H*-1,2,4-τριαζολ-1-υλο)μεθυλ] οξιράνιο		406-850-2	133855-98-8	Carc. Cat. 3; R40 Repr. Cat. 3; R62 Repr. Cat. 3; R63 N; R51-53	Xn; N R: 40-62-63-51/53 S: (2-)36/37-46-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
615-001-00-7	ισοκυανικός μεθυλεστέρας		210-866-3	624-83-9	F+; R12 Repr.Cat.3; R63 T+; R26 T; R24/25 R42/43 Xi; R37/38-41	F+; T+ R: 12-24/25-26-37/38-41-42/43-63 S: (1/2-)26-27/28-36/37/39-45-63		
615-004-00-3	άλατα θειοκυανικού οξέος	A	-	-	Xn; R20/21/22 R32 R52-53	Xn R: 20/21/22-32-52/53 S: (2-)13-61		
615-006-00-4	-διϊσοκυανικό 2-μεθυλο-*μ*-φαινυλένιο 2,4-διϊσοκυανικό τολουόλιο [1] διϊσοκυανικό 4-μεθυλο-*μ*-φαινυλένιο 2,6-διϊσοκυανικό τολουόλιο [2] διϊσοκυανικό *μ*-τολυλιδένιο διϊσοκυανικό τολουόλιο [3]		202-039-0 [1] 209-544-5 [2] 247-722-4 [3]	91-08-7 [1] 584-84-9 [2] 26471-62-5 [3]	Carc. Cat. 3; R40 T+; R26 Xi; R36/37/38 R42/43 R52-53	T+ R: 26-36/37/38-40-42/43-52/53 S: (1/2-)23-36/37-45-61	C ≥ 25 %: T+; R26-36/37/38-40-42/43-52/53 20 % ≤ C < 25 %: T+; R26-36/37/38-40-42/43 7 % ≤ C < 20 %: T+; R26-40-42/43 1 % ≤ C < 7 %: T; R23-40-42/43 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20-42	
615-008-00-5	ισοκυανικό 3-ισοκυανατομεθυλο-3,5,5-τριμεθυλοκυκλοεξύλιο		223-861-6	4098-71-9	T; R23 Xi; R36/37/38 R42/43 N; R51-53	T; N R: 23-36/37/38-42/43-51/53 S: (1/2-)26-28-38-45-61	C ≥ 25 %: T, N; R23-36/37/38-42/43-51/53 20 % ≤ C < 25 %: T; R23-36/37/38-42/43-52/53 2,5 % ≤ C < 20 %: T; R23-42/43-52/53 2 % ≤ C < 2,5 %: T; R23-42/43 0,5 % ≤ C < 2 %: Xn; R20-42/43	2
615-015-00-3	θειοκυανοτο-οξικός 1,7,7-τριμεθυλοδικυκλο(2,2,1)επτ-2-υλεστέρας		204-081-5	115-31-1	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)24/25-60-61		
616-015-00-6	alachlor (ISO) 2-χλωρο-2',6'-διαιθυλο-N-(μεθοξυμεθυλ)ακετανιλίδιο		240-110-8	15972-60-8	Carc. Cat. 3; R40 Xn; R22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-40-43-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-40-43-50-53 1 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R40-43-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
616-024-00-5	2-(4,4-διμεθυλο-2,5-διοξοοξαζολιδιν-1-υλο)-5-(2-(2,4-δι-τερτ-πεντυλοφαινοξυ)βουτυραμιδο)-4,4-διμεθυλ-3-οξο-2-χλωροβαλερανιλίδιο		402-260-4	-	R53	R: 53 S: 61		
617-002-00-8	υροϋπεροξείδιο του α,α-διμεθυλοβενζυλίου		201-254-7	80-15-9	O; R7 T; R23 Xn; R21/22-48/20/22 C; R34 N; R51-53	O; T; N R: 7-21/22-23-34-48/20/22-51/53 S: (1/2-)3/7-14-36/37/39-45-50-61	C ≥ 25 %: T, N; R21/22-23-34-48/20/22-51/53 10 % ≤ C < 25 %: C; R20-34-48/20/22-52/53 3 % ≤ C < 10 %: Xn; R20-37/38-41-	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
							52/53 2,5 % ≤ C < 3 %: Xi; R36/37-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R36/37	
617-004-00-9	υδροϋπεροξείδιο του 1,2,3,4-τετραϋδρο-1-ναφθυλίου		212-230-0	771-29-9	O; R7 Xn; R22 C; R34 N; R50-53	O; C; N R: 7-22-34-50/53 S: (1/2-)3/7-14-26-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: C, N; R22-34-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R34-51/53 5 % ≤ C < 10 %: Xi, N; R36/37/38-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53	
648-043-00-X	κρεοζωτέλαιου, κλάσμα ακεναφθενίου, απαλλαγμένο ακεναφθενίου Επαναπόσταγμα ελαίων έκπλυσης [Το έλαιο το οποίο παραμένει μετά την απομάκρυνση με κρυστάλλωση του ακεναφθενίου από έλαιο ακεναφθενίου προερχόμενο από λιθανθρακόπισσα. Συνίσταται πρωτίστως από ναφθαλίνη και αλκυλοναφθαλίνες.]	H	292-606-9	90640-85-0	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-080-00-1	υπολείμματα (λιθανθρακόπισσας), απόσταξης κρεοζωτελαίου Επαναπόσταγμα ελαίων έκπλυσης [Το υπόλειμμα από την κλασματική απόσταξη ελαίου έκπλυσης που βράζει στην περιοχή από 270°C ως 330 °C περίπου (518°F ως 626 °F) . Συνίσταται κυρίως από διπύρηνους αρωματικούς και ετεροκυκλικούς υδρογονάνθρακες.]	H	295-506-3	92061-93-3	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
648-098-00-X	κρεοζωτέλαιου, κλάσμα ακεναφθενίου Έλαια έκπλυσης [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται με την απόσταξη λιθανθρακόπισσας και βράζει στην περιοχή από 240 °C ως 280 °C περίπου(464°F ως 536 °F). Αποτελείται πρωτίστως από ακεναφθένιο, ναφθαλίνη και αλκυλο ναφθαλίνη.]	H	292-605-3	90640-84-9	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-099-00-5	κρεοζωτέλαιο Έλαια έκπλυσης Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται με απόσταξη λιθανθρακόπισσας. Συνίσταται κυρίως από αρωματικούς υδρογονάνθρακες και μπορεί να περιέχει σημαντικές ποσότητες οξέων και βάσεων πίσσας. Αποστάζει στην περιοχή από 200°C ως 325°C περίπου(392°F ως 617 °F).]	H	263-047-8	61789-28-4	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-100-00-9	κρεοζωτελαίου, απόσταγμα υψηλής θερμοκρασίας βρασμού Έλαια έκπλυσης [Το υψηλής θερμοκρασίας βρασμού κλάσμα απόσταξης, που λαμβάνεται από την εξανθράκωση σε υψηλή θερμοκρασία ασφαλτούχου άνθρακα, που εν συνεχεία καθαρίζεται για να απομακρυνθεί η περίσσεια των κρυσταλλικών αλάτων. Συνίσταται πρωτίστως από κρεοζωτέλαιο από το οποίο έχουν απομακρυνθεί μερικά από τα κανονικά πολυπυρηνικά αρωματικά άλατα, που είναι συστατικά αποσταγμάτων λιθανθρακόπισσας. Στους 5°C (41°F) περίπου είναι ελεύθερο κρυστάλλων.]	H	274-565-9	70321-79-8	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
648-101-00-4	κρεόζωτο Έλαια έκπλυσης [Το απόσταγμα λιθανθρακόπισσας που παράγεται με την εξανθράκωση σε υψηλή θερμοκρασία ασφαλτούχου άνθρακα. Συνίσταται πρωτίστως από αρωματικούς υδρογονάνθρακες, οξέα πίσσας και βάσεις πίσσας.]	H	232-287-5	8001-58-9	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-102-00-X	υπολείμματα εκχύλισης (άνθρακα), οξύ κρεοζοτελαίου Υπόλειμματα εκχύλισης ελαίων έκπλυσης [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων από το ελεύθερο βάσης κλάσμα απόσταξης λιθανθρακόπισσας, που βράζει στην περιοχή από 250 °C ως 280 °C περίπου (482 °F ως 536 °F). Συνίσταται κυρίως από διφαινύλιο και ισομερή διφαινυλοναφθαλίνια.]	H	310-189-4	122384-77-4	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-138-00-6	κρεοζωτελαίου, αποστάγματα χαμηλής θερμοκρασίας βρασμού Έλαια έκπλυσης [Το χαμηλής θερμοκρασίας βρασμού κλάσμα απόσταξης που λαμβάνεται από την εξανθράκωση σε υψηλή θερμοκρασία ασφαλτούχου άνθρακα, που εν συνεχεία καθαρίζεται για να απομακρυνθεί η περίσσεια των κρυσταλλικών αλάτων. Συνίσταται πρωτίστως από κρεοζωτέλαιο από το οποίο έχουν απομακρυνθεί μερικά από τα κανονικά πολυπυρηνικά αρωματικά άλατα, που είναι συστατικά αποσταγμάτων λιθανθρακόπισσας. Στους 38°	H	274-566-4	70321-80-1	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	C περίπου (100°F) είναι ελεύθερο κρυστάλλων.]							
649-001-00-3	Εκχυλίσματα (πετρελαίου), ελαφρύ ναφθενικό απόσταγμα εκχυλισμένο με διαλύτη	H	265-102-1	64742-03-6	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-002-00-9	εκχυλίσματα (πετρελαίου), βαρύ παραφινικό απόσταγμα εκχυλισμένο με διαλύτη	H	265-103-7	64742-04-7	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-003-00-4	εκχυλίσματα (πετρελαίου), ελαφρύ παραφινικό απόσταγμα εκχυλισμένο με διαλύτ	H	265-104-2	64742-05-8	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-004-00-X	εκχυλίσματα (πετρελαίου), από βαρύ ναφθενικό απόσταγμα εκχυλισμένο με διαλύτη	H	265-111-0	64742-11-6	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-005-00-5	εκχυλίσματα (πετρελαίου), ελαφρού ακάθαρτου πετρελαίου κενού εκχυλισμένου με διαλύτη	H	295-341-7	91995-78-7	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-006-00-0	υδρογονάθρακες, C_{26-55}, πλούσιοι σε αρωματικά	H	307-753-7	97722-04-8	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-062-00-6	αέρια (πετρελαίου), κορυφής αποπροπανιωτήρα καταλυτικά πυρολυμένης νάφρας, πλούσια σε C_3 ελεύθερα οξέος Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται από κλασμάτωση καταλιτικώς πυρολυμένων υδρογονανθράκων και κατεργασία για να απομακρυνθούν όξινες προσμείξεις. Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα στην περιοχή από C_2 ως και C_4, κυρίως C_3.]	H K	270-755-0	68477-73-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-063-00-1	αέρια (πετρελαίου), μονάδας καταλυτικής πυρόλυσης Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται με την απόσταξη των προϊόντων καταλυτικής πυρόλυσης. Συνίσταται	H K	270-756-6	68477-74-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
	κυρίως από αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_6.]							
649-064-00-7	αέρια (πετρελαίου), μονάδας καταλυτικής πυρόλυσης, πλούσια σε C_{1-5} Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται με την απόσταξη των προϊόντων καταλυτικής πυρόλυσης. Συνίσταται κυρίως από αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_6, κυρίως από C_1 ως και C_5 .]	Η Κ	270-757-1	68477-75-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-065-00-2	αέρια (πετρελαίου), κορυφής σταθεροποιητή καταλυτικά πολυμερισμένης νάφθας προϊόντων, πλούσια σε C_{2-4} Πετρελαϊκό αέριο Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται από την κλασμάτωση σταθεροποίησης καταλυτικά πολυμερισμένης νάφθας. Συνίσταται από αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα στην περιοχή από C_2 ως και C_6, κυρίως από C_2 ως και C_4.]	Η Κ	270-758-7	68477-76-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-066-00-8	αέρια (πετρελαίου), καταλυτικού αναμορφωτήρα, πλούσια σε C_4 Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται με απόσταξη προϊόντων καταλυτικής αναμόρφωσης . Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα στην περιοχή από C_1 ως και C_6, κυρίως από C_1 ως και C_4.]	Η Κ	270-760-8	68477-79-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
649-067-00-3	αέρια (πετρελαίου), C_{3-5} ολεφίνες-παραφίνες τροφοδότησης αλκυλίωσης Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός ολεφινικών και παραφινικών υδρογονανθράκων με αριθμό ατόμων άνθρακα στην περιοχή από C_3 ως και C_5, οι οποίοι χρησιμοποιούνται για τροφοδότηση αλκυλίωσης. Οι θερμοκρασίες περιβάλλοντος κανονικά υπερβαίνουν την κρίσιμη θερμοκρασία των συνδυασμών αυτών.]	H K	270-765-5	68477-83-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-068-00-9	αέρια (πετρελαίου), πλούσια σε C_4 Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται με απόσταξη προϊόντων καταλυτικής κλασμάτωσης. Συνίσταται από αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα στην περιοχή από C_3 ως και C_5, κυρίως C_4.]	H K	270-767-6	68477-85-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-069-00-4	αέρια (πετρελαίου), προϊόντων κορυφής αποαιθανιωτήρα Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται από απόσταξη των κλασμάτων αερίου και βενζίνας από την καταλυτική πυρόλυση. Περιέχει κυρίως αιθάνιο και αιθυλένιο.]	H K	270-768-1	68477-86-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-070-00-X	αέρια (πετρελαίου), προϊόντων κορυφής στήλης αποϊσοβουτανιωτήρα Πετρελαϊκό αέριο Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται με την ατμοσφαιρική απόσταξη ρεύματος βουτανίου – βουτυλενίου. Συνίσταται από αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό	H K	270-769-7	68477-87-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_3 ως και C_4.]							
649-071-00-5	αέρια (πετρελαίου), ξηρά από αποπροπανιωτήρα, πλούσια σε προπένιο Πετρελαϊκό αέριο Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται με την απόσταξη προϊόντων των κλασμάτων αερίου και βενζίνης καταλυτικής πυρόλυσης. Συνίσταται κυρίως από προπυλένιο με λίγο αιθάνιο και προπάνιο.]	H K	270-772-3	68477-90-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-072-00-0	αέρια (πετρελαίου), προϊόντων κορυφής αποπροπανιωτήρα Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται με την απόσταξη προϊόντων των κλασμάτων αερίου και βενζίνας καταλυτικής πυρόλυσης. Συνίσταται από αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_2 ως και C_4.]	H K	270-773-9	68477-91-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-073-00-6	αέρια (πετρελαίου), μονάδας επανάκτησης αερίου αποπροπανιωτήρα Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται με κλασμάτωση διαφόρων ρευμάτων υδρογοναθράκων. Συνίσταται κυρίως από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα στην περιοχή από C_1 ως και C_4, κυρίως προπάνιο.]	H K	270-777-0	68477-94-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-074-00-1	αέρια (πετρελαίου), τροφοδότησης μονάδας Girbatol Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που χρησιμοποείται σαν την τροφοδότηση της μονάδας Girbatol για την απομάκρυνση	H K	270-778-6	68477-95-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	υδροθείου. Συνίσταται από αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα στην περιοχή από C_2 ως και C_4.]							
649-075-00-7	αέρια (πετρελαίου), μονάδας κλασμάτωσης ισομερισμένης νάφθας πλούσια σε C_4, απαλλαγμένα υδροθείου Πετρελαϊκό αέριο	H K	270-782-8	68477-99-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-076-00-2	αέριο ουράς (πετρελαίου), από καταλυτικώς πυρολυμένο διαυγασμένο έλαιο και θερμικώς πυρολυμένο υπόλειμμα κενού από δοχείο επαναρροής κλασμάτωσης Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται με κλασμάτωση καταλυτικώς πυρολυθέντος διαυγασμένου ελαίου και θερμικώς πυρολυθέντος υπολείμματος κενού. Συνίσταται κυρίως από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα στην περιοχή από C_1 ως και C_6.]	H K	270-802-5	68478-21-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-077-00-8	αέριο ουράς (πετρελαίου), απορροφητήρας σταθεροποίησης καταλυτικά πυρολυμένης νάφθας Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται από την σταθεροποίηση καταλυτικά πυρολυμένης νάφθας. Συνίσταται κυρίως από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_6.]	H K	270-803-0	68478-22-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-078-00-3	αέριο ουράς (πετρελαίου), μονάδας καταλυτικής πυρόλυσης, κοινού κλασματωτή μονάδας καταλυτικής αναμόρφωσης και μονάδας	H K	270-804-6	68478-24-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	υδρογονοαποθείωσης Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται από την κλασμάτωση προϊόντων καταλυτικής αναμόρφωσης και υδρογονοαποθείωσης και έχουν υποστεί κατεργασία για την απομάκρυνση όξινων ξένων προσμείξεων. Συνίσταται κυρίως από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5.]							
649-079-00-9	αέριο ουράς (πετρελαίου), σταθεροποιητή κλασμάτωσης καταλυτικά αναμορφωμένης νάφθας Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται από την κλασμάτωση σταθεροποίησης κλασμάτωσης καταλυτικά αναμορφωμένης νάφθας. Συνίσταται κυρίως από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_4.]	H K	270-806-7	68478-26-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-080-00-4	τελικό αέριο (πετρελαίου), εγκατάστασης κορεσμένων υδρογονανθράκων αερίου μείγματος ρευμάτων, πλούσιο σε C_4 Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται από την σταθεροποίηση κλασμάτωσης απευθείας νάφθας, ακαθάρτου πετρελαίου απόσταξης και καταλυτικής αναμορφωμένης νάφθας σταθεροποιητικού ακάθαρτου πετρελαίου. Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_3 ως και C_6, κυρίως βουτάνιο και	H K	270-813-5	68478-32-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
	ισοβουτάνιο.]							
649-081-00-X	τελικό αέριο (πετρελαίου), κορεσμένων υδρογονανθράκων αέριο εγκατάστασης ανάκτησης, πλούσιο σε C_{12} Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται από κλασμάτωση αποστάγματος τελικού αερίου. απευθείας νάφθας, καταλυτικώς αναμορφωμένης νάφθας σταθεροποιητή τελικού αερίου. Συνίσταται κυρίως από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5, κυρίως μεθάνιο και αιθάνιο.]	H K	270-814-0	68478-33-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-082-00-5	αέριο ουράς (πετρελαίου), υπολειμμάτων κενού μονάδας θερμικής πυρόλυσης Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται από θερμική πυρόλυση υπολειμμάτων κενού. Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5.]	H K	270-815-6	68478-34-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-083-00-0	υδρογονάνθρακες, πλούσιοι σε C_{3-4}, αποστάγματος πετρελαίου Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται με απόσταξη και συμπύκνωση αργού πετρελαίου. Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_3 ως και C_5, κυρίως C_3 και C_4.]	H K	270-990-9	68512-91-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-084-00-6	αέρια (πετρελαίου), εξερχόμενα από εξανιωτήρα πλήρους σύνθεσης απευθείας νάφθας Πετρελαϊκό αέριο	H K	271-000-8	68513-15-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	[Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται με την κλασμάτωση της πλήρους σύνθεσης απευθείας νάφθας. Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_2 ως και C_6.]							
649-085-00-1	αέρια (πετρελαίου), εξερχόμενα από αποπροπανιωτήρα υδρογονοπυρολυτήρα, πλούσια σε υδρογονάνθρακες Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται με την απόσταξη προϊόντων από υδρογονοπυρόλυση. Συνίσταται κυρίως από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_4. Μπορεί επίσης να περιέχει μικρές ποσότητες υδρογόνου και υδροθείου.]	H K	271-001-3	68513-16-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-086-00-7	αέρια (πετρελαίου), σταθεροποιητή ελαφράς απευθείας νάφθας Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται με την σταθεροποίηση ελαφράς απευθείας νάφθας. Συνίσταται από κορεσμένους αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_2 ως και C_6.]	H K	271-002-9	68513-17-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-087-00-2	υπολείμματα (πετρελαίου), διαχωριστήρα αλκυλίωσης, πλούσια σε C_4 Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκο υπόλειμμα από την απόσταξη ρευμάτων από διάφορες διεργασίες διυλιστηρίου. Συνίσταται από	H K	271-010-2	68513-66-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα στην περιοχή από C_4 ως και C_5, κυρίως βουτάνιο και με περιοχή βρασμού από –11,7 °C ως 27,8 °C (11°F ως 82 °F) περίπου.]							
649-088-00-8	υδρογονάνθρακες, C_{1-4} Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται με θερμοπυρόλυση και εργασίες απορρόφησης και από απόσταξη αργού πετρελαίου. Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_4 και περιοχή βρασμού από μείον 164 °C ως μείον 0,5 °C (-263°F ως 31 °F) περίπου.]	H K	271-032-2	68514-31-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-089-00-3	υδρογονάνθρακες, C_{1-4}, γλυκασμένοι Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται υποβάλλοντας αέριους υδρογονάνθρακες σε γλύκανση για να μετατραπούν μερκαπτάνες ή να απομακρυνθούν όξινες προσμίξεις . Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_4 και με περιοχή βρασμού από μείον 164 °C ως μείον 0,5 °C (-263°F ως 31 °F) περίπου.]	H K	271-038-5	68514-36-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-090-00-9	υδρογονάνθρακες, C_{1-13} Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_3, και που βράζει στην περιοχή από μείον 164 °C ως μείον 42 °C (-263°F ως -44 °F) περίπου.]	H K	271-259-7	68527-16-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-091-00-4	υδρογονάνθρακες, C_{1-4}, κλάσμα αποβουτανιωτή	H K	271-261-8	68527-19-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευάσματα
	Πετρελαϊκό αέριο					S: 53-45		
649-092-00-X	αέρια (πετρελαίου), C_{1-5}, υγρά Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται με την απόσταξη αργού πετρελαίου και/ή την πυρόλυση γκαζόϊλ του πύργου απόσταξης. Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5.]	H K	271-624-0	68602-83-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-093-00-5	υδρογονάνθρακες, C_{2-4} Πετρελαϊκό αέριο	H K	271-734-9	68606-25-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-094-00-0	υδρογονάνθρακες, C_3 Πετρελαϊκό αέριο	H K	271-735-4	68606-26-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-095-00-6	αέρια (πετρελαίου), τροφοδότησης αλκυλίωσης Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται με την καταλυτική πυρόλυση ακάθαρτου πετρελαίου. Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_3 ως και C_4.]	H K	271-737-5	68606-27-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-096-00-1	αέρια (πετρελαίου), εκλυόμενα από κλασμάτωση προϊόντων πυθμένα αποπροπανιωτήρα Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται από την κλασμάτωση προϊόντων πυθμένα αποπροπανιωτήρα. Συνίσταται κυρίως από βουτάνιο, ισοβουτάνιο και βουταδιένιο.]	H K	271-742-2	68606-34-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-097-00-7	αέρια (πετρελαίου), μείγμα διϋλιστηρίου Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός που λαμβάνεται από διάφορες διεργασίες	H K	272-183-7	68783-07-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	διϋλιστηρίου. Συνίσταται από υδρογόνο, υδρόθειο και υδρογονάνθρακες κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5.]							
649-098-00-2	αέρια (πετρελαίου), καταλυτικής πυρόλυσης Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται με την απόσταξη προϊόντων καταλυτικής πυρόλυσης. Συνίσταται κυρίως από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_3 ως και C_5.]	H K	272-203-4	68783-64-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-099-00-8	αέρια (πετρελαίου), C_{2-4} γλυκασμένα Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται όταν απόσταγμα πετρελαίου υποβάλλεται σε κατεργασία γλύκανσης για να μετατραπούν μερκαπτάνες ή για να απομακρυνθούν όξινες προσμίξεις . Συνίσταται κυρίως από κορεσμένους και ακόρεστους υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_2 ως και C_4 και βράζει στην περιοχή από -51 °C ως -34 °C (-60°F ως -30 °F) περίπου.]	H K	272-205-5	68783-65-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-100-00-1	αέρια (πετρελαίου), εξόδου κλασμάτωσης αργού πετρελαίου Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται με την κλασμάτωση αργού πετρελαίου. Συνίσταται από κορεσμένους αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5.]	H K	272-871-7	68918-99-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-101-00-7	αέρια (πετρελαίου), εξόδου αποεξανιωτήρα Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος	H K	272-872-2	68919-00-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται από την κλασμάτωση συνενωμένων ρευμάτων νάφθας. Συνίσταται από κορεσμένους αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5.]							
649-102-00-2	αέρια (πετρελαίου), εξόδου σταθεροποιητή κλασμάτωσης ελαφράς βενζίνης απευθείας απόσταξης Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται με την κλασμάτωση ελαφράς βενζίνης απευθείας απόσταξης. Συνίσταται από κορεσμένους αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5.]	H K	272-878-5	68919-05-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-103-00-8	αέρια (πετρελαίου), εξόδου απογυμνωτή αποθείωσης νάφθας με τη μέθοδο unifining Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται με αποθείωση νάφθας με την μέθοδο unifining και απογυμνώνεται από το προϊόν της νάφθας. Συνίσταται από κορεσμένους αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_4.]	H K	272-879-0	68919-06-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-104-00-3	αέρια (πετρελαίου), εκλυόμενα από καταλυτικό αναμορφωτήρα απευθείας νάφθας Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται με την καταλυτική αναμόρφωση απευθείας νάφθας και κλασμάτωση της	H K	272-882-7	68919-09-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευάσματα
	ολικής απορροής. Συνίσταται από μεθάνιο, αιθάνιο και προπάνιο.]							
649-105-00-9	αέρια (πετρελαίου), προϊόντα κορυφής διαχωριστήρα ρευστοειδούς καταλυτικού πυρολυτήρα Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται με την κλασμάτωση του φορτίου στον διαχωριστήρα C_3 -C_4. Συνίσταται κυρίως από υδρογονάνθρακες C_3.]	H K	272-893-7	68919-20-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-106-00-4	αέρια (πετρελαίου), εκλυόμενα από σταθεροποιητή απευθείας απόσταξης Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται από την κλασμάτωση του υγρού από την πρώτη στήλη που χρησιμοποιείται στην απόσταξη αργού πετρλαίου. Συνίσταται από κορεσμένους αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_4.]	H K	272-883-2	68919-10-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45 S: 53-45		
649-107-00-X	αέρια (πετρελαίου), καταλυτικά πυρολυμένης νάφθας αποβουτανιωτήρα Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται από κλασμάτωση καταλυτικά πυρολυμένης νάφθας. Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_4.]	H K	273-169-3	68952-76-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-108-00-5	αέριο ουράς (πετρελαίου), καταλυτικά πυρολυμένου αποστάγματος και νάφθας σταθεροποιητή Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός	H K	273-170-9	68952-77-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	υδρογονανθράκων που λαμβάνεται με κλασμάτωση καταλυτικά πυρολυμένης νάφθας και αποστάγματος. Συνίσταται κυρίως από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_4.]							
649-109-00-0	αέριο ουράς (πετρελαίου), θερμοπυρολυμένου αποστάγματος, ακάθαρτου πετρελαίου και απορροφητήρα νάφθας Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται από τον διαχωρισμό θερμοπυρολυμένων αποσταγμάτων νάφθας και ακαθάρτου πετρελαίου. Συνίσταται κυρίως από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_6.]	H K	273-175-6	68952-81-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-110-00-6	αέριο ουράς (πετρελαίου), θερμοπυρολυμένων υδρογονανθράκων σταθεροποιητήρα κλασμάτωσης, εξανθράκωσης πετρελαίου Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται από την σταθεροποίηση κλασμάτωσης θερμοπυρολυμένων υδρογονανθράκων από εξανθράκωση πετρελαίου. Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_6.]	H K	273-176-1	68952-82-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-111-00-1	αέρια (πετρελαίου), ελαφρά ατμοπυρολυμένα, συμπύκνωμα βουταδιενίου Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται με την απόσταξη	H K	273-265-5	68955-28-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	προϊόντων θερμοπυρόλυσης. Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως C_4.]							
649-112-00-7	αέρια (πετρελαίου), προϊόντων κορυφής σταθεροποιητήρα καταλυτικού αναμορφωτήρα απευθείας νάφθας Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων πουλαμβάνεται με καταλυτική αναμόρφωση απευθείας νάφθας και την κλασμάτωση της ολικής απορροής. Συνίσταται από κορεσμένους αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_2 ως και C_4.]	H K	273-270-2	68955-34-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-113-00-2	υδρογονάνθρακες, C_4 Πετρελαϊκό αέριο	H K	289-339-5	87741-01-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-114-00-8	αλκάνια, C_{1-4}, πλούσια σε C_3 Πετρελαϊκό αέριο	H K	292-456-4	90622-55-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-115-00-3	αέρια (πετρελαίου), μονάδας ατμοπυρόλυσης πλούσια σε C_3 Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται με την απόσταξη προϊόντων από διεργασία ατμοπυρόλυσης. Συνίσταται κυρίως από προπυλένιο με λίγο προπάνιο και βράζει στην περιοχή από μείον 70 ^oC ως 0 ^oC (-94^oF ως 32 ^oF) περίπου.]	H K	295-404-9	92045-22-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-116-00-9	υδρογονάνθρακες, C_4, απόσταγμα μονάδας ατμοπυρόλυσης Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται με την απόσταξη προϊόντων από διεργασία ατμοπυρόλυσης. Συνίσταται	H K	295-405-4	92045-23-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	κυρίως από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα C_4, κυρίως 1-βουτένιο περιέχει δε επίσης βουτάνιο και ισοβουτένιο και έχει περιοχή βρασμού από μείον 12 °C ως 5 °C (10,4°F ως 41 °F) περίπου.]							
649-117-00-4	αέρια πετρελαίου, υγροποιημένα, γλυκασμένα, κλάσμα C_4 Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται όταν μείγμα υγραερίου πετρελαίου υποβάλλεται σε κατεργασία γλύκανσης για την οξείδωση των μερκαπτανών ή την απομάκρυνση οξίνων προσμίξεων. Συνίσταται κυρίως από κορεσμένους και ακόρεστους υδρογονάνθρακες με C_4.]	HKS	295-463-0	92045-80-2	F+; R12 Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	F+; T R: 12-45-46 S: 53-45		
649-119-00-5	εκχυλισμένα προϊόντα (πετρελαίου), εκχύλισης με εναμμώνιο οξικό χαλκό (ΙΙ) ατμοπυρολυθέντος κλάσματος C_4, C_{3-5} και C_{3-5} ακόρεστα, ελεύθερα βουταδιενίου Πετρελαϊκό αέριο	H K	307-769-4	97722-19-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-120-00-0	αέρια (πετρελαίου), τροφοδότησης συστήματος αμίνης Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Το αέριο τροφοδότησης του συστήματος αμίνης για την απομάκρυνση υδροθείου. Συνίσταται από υδρογόνο. Μπορεί επίσης να υπάρχουν μονοξείδιο άνθρακα, διοξείδιο άνθρακα, υδρόθειο και αλειφατικοί υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5.]	H K	270-746-1	68477-65-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-121-00-6	αέρια (πετρελαίου), εκλυόμενα από αποϋδροθείωση μονάδας	H K	270-747-7	68477-66-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	βενζολίου Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Εκλυόμενα αέρια που παράγονται στη μονάδα του βενζολίου. Συνίσταται πρωτίστως από υδρογόνο. Είναι δυνατό επίσης να υπάρχουν μονοξείδιο άνθρακα και υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_6, περιλαμβανομένου βενζολίου.]							
649-122-00-1	αέρια (πετρελαίου), ανακύκλωσης μονάδας βενζολίου, πλούσια σε υδρογόνο Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται με ανακύκλωση των αερίων της μονάδας βενζολίου. Συνίσταται πρωτίστως από υδρογόνο με διάφορες μικροποσότητες μονοξειδίου άνθρακα και υδρογονανθράκων με αριθμό ατόμων άνθρακα στην περιοχή από C_1 ως και C_6 .]	H K	270-748-2	68477-67-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-123-00-7	αέρια (πετρελαίου), ελαίου ανάμειξης, πλούσια σε υδρογόνο-άζωτο Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται με απόσταξη ελαίου ανάμειξης. Συνίσταται πρωτίστως από υδρογόνο και άζωτο με διάφορες μικροποσότητες μονοξειδίου άνθρακα, διοξειδίου άνθρακα και αλειφατικών υδρογονανθράκων με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5 .]	H K	270-749-8	68477-68-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-124-00-2	αέρια (πετρελαίου), κορυφής απογυμνωτή καταλυτικά αναμορφωμένης νάφθας	H K	270-759-2	68477-77-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
	προϊόντων Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται από την σταθεροποίηση καταλυτικά αναμορφωμένης νάφθας. Συνίσταται από υδρογόνο και κορεσμένους αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_4 .]							
649-125-00-8	αέρια (πετρελαίου), ανακύκλωσης καταλυτικού αναμορφωτήρα C_{6-8} Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται με απόσταξη προϊόντων καταλυτικής αναμόρφωσης τροφοδότησης $C_6 – C_8$ και ανακύκλωση για διατήρηση του υδρογόνου. Συνίσταται πρωτίστως από υδρογόνο. Μπορεί επίσης να έχει διάφορες μικροποσότητες μονοξειδίου άνθρακα, διοξειδίου άνθρακα, αζώτου και υδρογονανθράκων με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_6 .]	H K	270-761-3	68477-80-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-126-00-3	αέρια (πετρελαίου), C_{6-8} καταλυτικού αναμορφωτήρα Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται με απόσταξη προϊόντων καταλυτικής αναμόρφωσης τροφοδότησης $C_6 – C_8$. Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5 και υδρογόνο.]	H K	270-762-9	68477-81-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-127-00-9	αέρια (πετρελαίου), ανακύκλωμα C_{6-8} καταλυτικού αναμορφωτήρα, πλούσια σε	H K	270-763-4	68477-82-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	υδρογόνο Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου							
649-128-00-4	αέρια (πετρελαίου), ρεύμα επιστροφής C_2 Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται με την εξαγωγή υδρογόνου από ρεύμα αερίου, το οποίο συνίσταται πρωτίστως από υδρογόνο με μικρές ποσότητες αζώτου, μονοξειδίου άνθρακα, μεθανίου, αιθανίου και αιθυλενίου. Περιέχει κυρίως υδρογονάνθρακες όπως μεθάνιο, αιθάνιο και αιθυλένιο με μικρές ποσότητες υδρογόνου, αζώτου και μονοξειδίου άνθρακα.]	H K	270-766-0	68477-84-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-129-00-X	αέρια (πετρελαίου), όξινα ξηρά, εκλυόμενα από μονάδα συμπύκνωσης αερίου Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Ο πολύπλοκος συνδυασμός ξηρών αερίων μονάδας συμπύκνωσης αερίου. Συνίσταται από υδρογόνο, υδρόθειο και υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_3 .]	H K	270-774-4	68477-92-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-130-00-5	αέρια (πετρελαίου), απόσταξης επαναπορροφητήρα συμπύκνωσης αερίου Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται με απόσταξη προϊόντων κοινών ρευμάτων αερίου σε επαναπορροφητήρα συμπύκνωσης αερίου. Συνίσταται από υδρογόνο, μονοξείδιο άνθρακα, διοξείδιο άνθρακα, άζωτο, υδρόθειο και υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα στην περιοχή	H K	270-776-5	68477-93-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
	από C_1 ως και C_3 .]							
649-131-00-0	αέρια (πετρελαίου), εκλυόμενα από απορροφητήρα υδρογόνου Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που λαμβάνεται με απορρόφηση από ρεύμα πλούσιο σε υδρογόνο. Συνίσταται κυριώς από υδρογόνο, μονοξείδιο άνθρακα, άζωτο, και μεθάνιο με μικροποσότητες υδρογονανθράκων C_2 .]	H K	270-779-1	68477-96-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-132-00-6	αέρια (πετρελαίου), πλούσια σε υδρογόνο Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που διαχωρίζεται σαν αέριο από αέριους υδρογονάνθρακες με ψύξη. Συνίσταται κυριώς από υδρογόνο με διάφορες μικροποσότητες μονοξειδίου άνθρακα, αζώτου, μεθανίου και υδρογονανθράκων C_2.]	H K	270-780-7	68477-97-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-133-00-1	αέρια (πετρελαίου), ανακυκλωμένου κατεργασμένου με υδρογόνο ελαίου ανάμειξης, πλούσια σε υδρογόνο-άζωτο Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που λαμβάνεται από ανακυκλωμένο κατεργασμένο με υδρογόνο έλαιο ανάμειξης. Συνίσταται κυρίως από υδρογόνο και άζωτο με διάφορες μικροποσότητες μονοξειδίου άνθρακα, διοξειδίου άνθρακα και υδρογονανθράκων με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5.]	H K	270-781-2	68477-98-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-134-00-7	αέρια (πετρελαίου), ανακύκλωσης, πλούσια σε υδρογόνο Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που λαμβάνεται από ανακυκλωμένα αέρια	H K	270-783-3	68478-00-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	αντιδραστήρα. Συνίσταται κυρίως από υδρογόνο με διάφορες μικροποσότητες μονοξειδίου άνθρακα, διοξειδίου άνθρακα, αζώτου, υδροθείου και αλειφατικών υδρογονανθράκων με αριθμό ατόμων άνθρακα στην περιοχή από C_1 ως και C_5.]							
649-135-00-2	αέρια (πετρελαίου), συμπληρώματος αναμορφωτήρα, πλούσια σε υδρογόνο Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που λαμβάνεται από τους αναμορφωτήρες. Συνίσταται πρωτίστως από υδρογόνο με διάφορες μικροποσότητες μονοξειδίου άνθρακα, και αλειφατικών υδρογονανθράκων με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5.]	H K	270-784-9	68478-01-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-136-00-8	αέρια (πετρελαίου), αναμόρφωσης με κατεργασία με υδρογόνο Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που λαμβάνεται από την αναμόρφωση με κατεργασία με υδρογόνο. Συνίσταται πρωτίστως από υδρογόνο, μεθάνιο και αιθάνιο με διάφορες μικροποσότητες υδροθείου και αλειφατικών υδρογονανθράκων με αριθμό ατόμων άνθρακα στην περιοχή κυρίως από C_3 ως και C_5.]	H K	270-785-4	68478-02-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-137-00-3	αέρια (πετρελαίου), αναμόρφωσης με κατεργασία με υδρογόνο πλούσια σε υδρογόνο-μεθάνιο Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που λαμβάνεται από την αναμόρφωση με κατεργασία με υδρογόνο. Συνίσταται πρωτίστως από υδρογόνο και μεθάνιομε διάφορες	H K	270-787-5	68478-03-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	μικροποσότητες μονοξειδίου άνθρακα, διοξειδίου άνθρακα, αζώτου και κορεσμένων αλειφατικών υδρογονανθράκων με αριθμό ατόμων άνθρακα στην περιοχή από C_1 ως και C_5.]							
649-138-00-9	αέρια (πετρελαίου), συμπλήρωσης μονάδας υδρογονοκατεργασίας αναμόρφωσης, πλούσια σε υδρογόνο Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που λαμβάνεται από την υδρογονοκατεγασία αναμόρφωσης. Συνίσταται πρωτίστως από υδρογόνο και ποικίλες μικροποσότητες μονοξειδίου άνθρακα, και αλειφατικών υδρογονανθράκων με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5.]	H K	270-788-0	68478-04-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-139-00-4	αέρια (πετρελαίου), απόσταξης θερμικής πυρόλυσης Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που παράγεται με απόσταξη προϊόντων από θερμική πυρόλυση. Συνίσταται από υδρογόνο υδρόθειο, μονοξείδιο άνθρακα, διοξείδιο άνθρακα και υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_6.]	H K	270-789-6	68478-05-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-140-00-X	αέριο ουράς (πετρελαίου), απορροφητήρα κλασμάτωσης μονάδας καταλυτικής πυρόλυσης Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται από επανακλασμάτωση προϊόντων καταλυτικής πυρόλυσης. Συνίσταται από υδρογόνο και	H K	270-805-1	68478-25-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_3.]							
649-141-00-5	αέριο ουράς (πετρελαίου), διαχωριστήρα καταλυτικά αναμορφωμένης νάφθας Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται από την καταλυτική αναμόρφωση νάφθας απευθείας απόσταξης. Συνίσταται από υδρογόνο και υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_6.]	H K	270-807-2	68478-27-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-142-00-0	αέριο ουράς (πετρελαίου), σταθεροποιητήρα καταλυτικά αναμορφωμένης νάφθας Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται από την σταθεροποίηση καταλυτικά αναμορφωμένης νάφθας. Συνίσταται από υδρογόνο και υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_6.]	H K	270-808-8	68478-28-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-143-00-6	αέριο ουράς (πετρελαίου), διαχωριστήρα μονάδας υδρογονοκατεργασίας πυρολυμένου αποστάγματος Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται με κατεργασία πυρολυμένων αποσταγμάτων με υδρογόνο παρουσία καταλύτη. Συνίσταται από υδρογόνο και κορεσμένους αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5 περίπου.]	H K	270-809-3	68478-29-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-144-00-1	αέριο ουράς (πετρελαίου), διαχωριστήρα	H K	270-810-9	68478-30-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	υδρογοναποθειωμένης νάφθας απευθείας απόσταξης Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται από υδρογονοαποθείωση νάφθας απευθείας απόσταξης. Συνίσταται από υδρογόνο και κορεσμένους αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_6 περίπου.]					S: 53-45		
649-145-00-7	αέρια (πετρελαίου), προϊόντων κορυφής σταθεροποιητή καταλυτικά αναμορφωμένης απευθείας νάφθας Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται από την καταλυτική αναμόρφωση απευθείας νάφθας, που ακολουθείται από κλασμάτωση της ολικής απορροής. Συνίσταται από υδρογόνο, μεθάνιο, αιθάνιο και προπάνιο.]	H K	270-999-8	68513-14-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-146-00-2	αέρια (πετρελαίου), απορροής αναμορφωτήρα εκλυόμενα από δοχείο εκτόνωσης υψηλής πίεσης Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που παράγεται με υψηλής πίεσης απότομη εκτόνωση της απορροής από τον αντιδραστήρα αναμ.όρφωσης. Συνίσταται πρωτίστως από υδρογόνο με διάφορες μικρές ποσότητες μεθανίου, αιθανίου και προπανίου.]	H K	271-003-4	68513-18-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-147-00-8	αέρια (πετρελαίου), απορροής αναμορφωτήρα εκλυόμενα από δοχείο εκτόνωσης χαμηλής πίεσης Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου	H K	271-005-5	68513-19-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	[Πολύπλοκος συνδυασμός που παράγεται με απότομη εκτόνωση χαμηλής πίεσης της απορροής του αντιδραστήρα αναμόρφωσης. Συνίσταται κυρίως από υδρογόνο με διάφορες μικρές ποσότητες μεθανίου, αιθανίου και προπανίου.]							
649-148-00-3	αέρια (πετρελαίου), εξόδου απόσταξης αερίου διυλιστηρίου πετρελαίου Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που διαχωρίζεται με απόσταξη αερίου ρεύματος το οποίο περιέχει υδρογόνο, μονοξείδιο άνθρακα, διοξείδιο άνθρακα και υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα στην περιοχή από C_1 ως και C_6 ή λαμβάνεται με πυρόλυση αιθανίου και προπανίου. Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_2, υδρογόνο, άζωτο και μονοξείδιο άνθρακα.]	H K	271-258-1	68527-15-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-149-00-9	αέρια (πετρελαίου), προϊόντα κορυφής αποπεντανιωτήρα μονάδας υδρογονοκατεργασίας βενζολίου Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που παράγεται με κατεργασία πρώτης ύλης που προέρχεται από την μονάδα βενζολίου με υδρογόνο παρουσία καταλύτη και η οποία ακολουθείται από αποπεντανίωση. Συνίσταται κυρίως από υδρογόνο, αιθάνιο και προπάνιο μαζί με διάφορες μικροποσότητες αζώτου, μονοξειδίου άνθρακα, διοξειδίου άνθρακα και	H K	271-623-5	68602-82-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	υδρογονανθράκων με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_6. Μπορεί να περιέχει ίχνη βενζολίου.]							
649-150-00-4	αέρια (πετρελαίου), εκλυόμενα από δευτερεύοντα απορροφητήρα, προϊόντων κορυφής μονάδας κλασμάτωσης μονάδας καταλυτικής πυρόλυσης σε ρευστοστερεά κλίνη Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που παράγεται με την κλασμάτωση των προϊόντων κορυφής από καταλυτική πυρόλυση σε μονάδα καταλυτικής πυρόλυσης σε ρευστοστερεά κλίνη. Συνίσταται από υδρογόνο, άζωτο και υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα στην περιοχή κυρίως από C_1 ως και C_3.]	H K	271-625-6	68602-84-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-151-00-X	προϊόντα πετρελαίου, αέρια διυλιστηρίου Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που αποτελείται κυρίως από υδρογόνο και διάφορες μικροποσότητες μεθανίου, αιθανίου και προπανίου.]	H K	271-750-6	68607-11-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-152-00-5	αέρια (πετρελαίου), χαμηλής πίεσης διαχωριστήρα υδρογονοπυρόλυσης Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που παράγεται με τον διαχωρισμό υγρού – ατμού, των εκροών του αντιδραστήρα υδρογονοπυρόλυσης . Συνίσταται κυρίως από υδρογόνο και κορεσμένους υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_3.]	H K	272-182-1	68783-06-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-153-00-0	αέρια (πετρελαίου), διϋλιστηρίου Καύσιμο αέριο	H K	272-338-9	68814-67-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
	διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που λαμβάνεται από διάφορες διαδικασίες διύλισης πετρελαίου. Συνίσταται από υδρογόνο και υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_3.].					S: 53-45		
649-154-00-6	αέρια (πετρελαίου), εξόδου διαχωριστήρα προϊόντων μονάδας αναμόρφωσης με καταλύτη λευκόχρυσο Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που λαμβάνεται από την χημική αναμόρφωση ναφθενίων σε αρωματικά. Συνίσταται από υδρογόνο και κορεσμένους αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα στην περιοχή από C_2 ως και C_4.].	H K	272-343-6	68814-90-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-155-00-1	αέρια (πετρελαίου), εξόδου σταθεροποιητή αποπροπανιωτήρα υδρογονοκατεργασμένης αγλύκαστης κηροζίνης Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Ο πολύπλοκος συνδυασμός που λαμβάνεται από την σταθεροποίηση υδρογονοκατεργασμένης κηροζίνης αποπροπανιωτήρα. Συνίσταται πρωτίστως από υδρογόνο, μεθάνιο και προπάνιο μαζί με ποικίλες μικροποσότητες αζώτου, υδροθείου, μονοξειδίου άνθρακα και υδρογονανθράκων με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_4 ως και C_5.].	H K	272-775-5	68911-58-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-156-00-7	αέρια (πετρελαίου), δοχείου εκτόνωσης υδρογονοκατεργασμένης αγλύκαστης κηροζίνης Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που	H K	272-776-0	68911-59-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
	λαμβάνεται από το δοχείο εκτόνωσης της μονάδας αγλύκαστης κηροζίνης με υδρογόνο παρουσία καταλύτη. Συνίσταται πρωτίστως από υδρογόνο και μεθάνιο μαζί με ποικίλες μικροποσότητες αζώτου, μικροποσότητες μονοξειδίου άνθρακα και υδρογονανθράκων με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_2 ως και C_5.]							
649-157-00-2	αέρια (πετρελαίου), εξόδου απογυμνωτή μονάδας αποθείωσης αποστάγματος με την μέθοδο unifining Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που λαμβάνεται με απογύμνωση από το υγρό προϊόν της αποθείωσης με την μέθοδο unifining . Συνίσταται από υδρόθειο, μεθάνιο, αιθάνιο και προπάνιο.]	Η Κ	272-873-8	68919-01-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-158-00-8	αέρια (πετρελαίου), εξόδου κλασμάτωσης μονάδας καταλυτικής πυρόλυσης σε ρευστοστερεά κλίνη Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που παράγεται με την κλασμάτωση του προϊόντος κορυφής της καταλυτικής πυρόλυσης σε ρευστοστερεά κλίνη. Συνίσταται από υδρόθειο, άζωτο και υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5.]	Η Κ	272-874-3	68919-02-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-159-00-3	αέρια (πετρελαίου), εξόδου δευτερεύοντος απορροφητήρα καταιωνιστήρα μονάδας καταλυτικής πυρόλυσης σε ρευστοστερεά κλίνη Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που παράγεται με το πλύσιμο σε καταιωνιστήρα του αερίου	Η Κ	272-875-9	68919-03-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	κορυφής, από μονάδα καταλυτικής πυρόλυσης σε ρευστοστερεά κλίνη. Συνίσταται από υδρογόνο, άζωτο, μεθάνιο, αιθάνιο και προπάνιο.]							
649-160-00-9	αέρια (πετρελαίου), εξόδου απογυμνωτή αποθείωσης μονάδας υδρογονοκατεργασίας βαρέος αποστάγματος Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που έχει απογυμνωθεί από το υγρό προϊόν της αποθείωσης μονάδας υδρογονοκατεργασίας βαρέος αποστάγματος. Συνίσταται από υδρογόνο, υδρόθειο και κορεσμένους αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5.].	H K	272-876-4	68919-04-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-161-00-4	αέρια (πετρελαίου), εξερχόμενα από σταθεροποιητή αναμορφωτήρα, με καταλύτη λευκόχρυσο, κλασμάτωσης ελαφρών τελικών προϊόντων Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που λαμβάνεται με κλασμάτωση των ελαφρών τελικών προϊόντων των αντιδραστήρων με καταλύτη λευκόχρυσο της μονάδας του αναμορφωτήρα. Συνίσταται από υδρογόνο, μεθάνιο, αιθάνιο και προπάνιο.	H K	272-880-6	68919-07-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-162-00-X	αέρια (πετρελαίου), εξερχόμενα στήλης προεκτόνωσης, απόσταξης αργού Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που παράγεται από την πρώτη που χρησιμοποιείται στην απόσταξη του αργού	H K	272-881-1	68919-08-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	πετρελαίου. Συνίσταται από άζωτο και κορεσμένους αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5.]							
649-163-00-5	αέρια (πετρελαίου), εξερχόμενα από απογυμνωτήρα πίσσας Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που λαμβάνεται με την κλασμάτωση ανηγμένου αργού πετρελαίου. Συνίσταται από υδρογόνο και υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_4.]	H K	272-884-8	68919-11-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-164-00-0	αέρια (πετρελαίου), εξερχόμενα από απογυμνωτήρα ενοποιητήρα Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Συνδυασμός υδρογόνου και μεθανίου που λαμβάνεται με κλασμάτωση των προϊόντων από τη μονάδα ενοποιητήρα.]	H K	272-885-3	68919-12-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-165-00-6	αέριο ουράς (πετρελαίου), καταλυτικά υδρογονοαποθειωμένης νάφθας διαχωριστήρα Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Ο πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται από την υδρογονοαποθείωση νάφθας. Συνίσταται από υδρογόνο, μεθάνιο, αιθάνιο και προπάνιο.]	H K	273-173-5	68952-79-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-166-00-1	αέριο ουράς (πετρελαίου), απευθείας αποστάγματος νάφθας υδρογονοαποθειωτήρα Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που λαμβάνεται από την υδρογονοαποθείωση απευθείας αποστάγματος νάφθας. νάφθας. Συνίσταται από υδρογόνο και	H K	273-174-0	68952-80-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5.]							
649-167-00-7	αέρια (πετρελαίου), ελκυόμενα από σπογγώδη απορροφητήρα, ρευστοειδούς καταλυτικού πυρολυτήρα και κλασμάτωσης προϊόντος κορυφής αποθειωτήρα ακάθαρτου πετρελαίου Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που λαμβάνεται με την κλασμάτωση προϊόντων από ρευστοειδή καταλυτικό πυρολυτήρα και αποθειωτήρα ακαθάρτου πετρελαίου. Συνίσταται από υδρογόνο και υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_4.]	H K	273-269-7	68955-33-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-168-00-2	αέρια (πετρελαίου), απόσταξης αργού πετρελαίου και καταλυτικής πυρόλυσης Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που παράγεται με μεθόδους απόσταξης αργού πετρελαίου και καταλυτικής πυρόλυσης . Συνίσταται από υδρογόνο, υδρόθειο, άζωτο, μονοξείδιο άνθρακα και παραφινικούς και ολεφινικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_6.]	H K	273-563-5	68989-88-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-169-00-8	αέρια (πετρελαίου), εξόδου πλυντρίδας με διαιθανολαμίνη ακαθάρτου πετρελαίου Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός που παράγεται με αποθείωση ακαθάρτων πετρελαίων με διαιθανολαμίνη. Συνίσταται από υδρόθειο, υδρογόνο και αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην	H K	295-397-2	92045-15-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	περιοχή από C_1 ως και C_5.]							
649-170-00-3	αέρια (πετρελαίου), απορροής υδρογονοαποθείωσης ακαθάρτου πετρελαίου Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται με διαχωρισμό της υγρής φάσης από την απορροή αντίδρασης υδρογόνωσης . Συνίσταται από υδρογόνο, υδρόθειο και αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_3.]	H K	295-398-8	92045-16-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-171-00-9	αέρια (πετρελαίου), υδρογονοαποθείωσης ακάθαρτου πετρελαίου διαφυγή κάθαρσης Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται απ΄τη μονάδα αναμόρφωσης και από διαφυγές κάθαρσης από τον αντιδραστήρα υδργόνωσης. Συνίσταται από υδρογόνο και αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_4.]	H K	295-399-3	92045-17-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-172-00-4	αέρια (πετρελαίου), απότομη εξάτμιση από δοχείο επαναρροής υδρογονωτήρα Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός αερίων που λαμβάνεται από ακαριαία εξάτμιση των εκροών μετά την αντίδραση υδρογόνωσης. Συνίσταται κυρίως από υδρογόνο και αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_6.]	H K	295-400-7	92045-18-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-173-00-X	αέρια (πετρελαίου), υπολείμματος υψηλής πίεσης ατμοπυρόλυσης νάφθας	H K	295-401-2	92045-19-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
	Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός αερίων που λαμβάνεται σαν μείγμα των μη συμπυκνώσιμων τμημάτων από το προϊόν ατμοπυρόλυσης νάφθας και σαν υπολειμματικά αέρια που λαμβάνονται κατά την παραγωγή επόμενων προϊόντων. Συνίσταται κυρίως από υδρογόνο και παραφινικούς ολεφινικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5 με τον οποίο μπορεί επίσης να αναμειχθεί και φυσικό αέριο.]							
649-174-00-5	αέρια (πετρελαίου), εξόδου μονάδας ελάτωσης ιξώδους υπολείμματος Καύσιμο αέριο διυλιστηρίου [Πολύπλοκος συνδυασμός αερίων που λαμβάνεται από ελάττωση ιξώδους υπολειμμάτων σε φούρνο. Συνίσταται κυρίως από υδρόθειο και παραφινικούς και ολεφινικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5.]	H K	295-402-8	92045-20-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-177-00-1	αέρια (πετρελαίου), C_{3-4} Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων που λαμβάνεται με απόσταξη προϊόντων πυρόλυσης αργού πετρελαίου. Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα C_3 ως και C_4, κυρίως προπάνιο και προπυλένιο και με περιοχή βρασμού από –51°C ως -1 °C (-60°F ως 30 °F).]	H K	268-629-5	68131-75-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-178-00-7	αέρια ουράς (πετρελαίου), καταλυτικά πυρολυμένου απόσταγματος και απορροφητήρα κλασμάτωσης	H K	269-617-2	68307-98-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	καταλυτικά πυρολυμένης νάφθας Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογονανθράκων από την απόσταξη των προϊόντων από την καταλυτική πυρόλυση αποσταγμάτων και καταλυτικά πυρολυμένης νάφθας. Αποτελείται κυρίως από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_4.]							
649-179-00-2	αέριο ουράς (πετρελαίου), σταθεροποιητή κλασμάτωσης καταλυτικά πολυμερισμένης νάφθας Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογανθράκων από τα προϊόντα σταθεροποίησης κλασμάτωσης από πολυμερισμό νάφθας. Συνίσταται κυρίως από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_4.]	H K	269-618-8	68307-99-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-180-00-8	αέριο ουράς (πετρελαίου), σταθεροποιητή κλασμάτωσης καταλυτικά αναμορφωμένης νάφθας, ελεύθερο υδροθείου Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογανθράκων που λαμβάνεται από σταθεροποίηση κλασμάτωσης καταλυτικά αναμορφωμένης νάφθας και από τον οποίο έχει απομακρυνθεί υδρόθειο με κατεργασία με αμίνη. Συνίσταται κυρίως από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_4.]	H K	269-619-3	68308-00-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-181-00-3	αέριο ουράς (πετρελαίου), απογυμνωτήρα υδρογονοκατεργαστήρα πυρολυμένου αποστάγματος Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός	H K	269-620-9	68308-01-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευάσματα
	υδρογανθράκων που λαμβάνεται με κατεργασία θερμικά πυρολυμένων αποσταγμάτων με υδρογόνο παρουσία καταλύτη. Συνίσταται κυρίως από κορεσμένους υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα στην περιοχή από C_1 ως και C_6.]							
649-182-00-9	αέριο ουράς (πετρελαίου), υδρογονοαποθειωτήρα απευθείας αποστάγματος, απαλλαγμένου υδροθείου Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογανθράκων που λαμβάνεται από καταλυτική υδρογονοαποθείωση απευθείας αποσταγμάτων και από τα οποία έχει απομακρυνθεί υδρόθειο με κατεργασία αμίνης. Συνίσταται κυρίως από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_4.]	Η Κ	269-630-3	68308-10-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-183-00-4	αέριο ουράς (πετρελαίου), απορροφητήρα καταλυτικής πυρόλυσης ακάθαρτου πετρελαίου Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογανθράκων που λαμβάνεται από την απόσταξη προϊόντων από την καταλυτική πυρόλυση ακάθαρτου πετρελαίου. Συνίσταται κυρίως από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5.]	Η Κ	269-623-5	68308-03-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-184-00-X	τελικό αέριο (πετρελαίου), εγκατάσταση ανάκτησης αερίου Πετρελαϊκό αέριο Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογανθράκων από την απόσταξη προϊόντων από διάφορα ρεύματα	Η Κ	269-624-0	68308-04-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	υδρογονανθράκων . Συνίσταται κυρίως από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5.]							
649-185-00-5	αέριο ουράς (πετρελαίου), εγκατάστασης ανάκτησης αερίου απαιθανιωτήρα Πετρελαϊκό αέριο Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογανθράκων από την απόσταξη προϊόντων από διάφορα ρεύματα υδρογονανθράκων. Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_4.]	H K	269-625-6	68308-05-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-186-00-0	αέριο ουράς (πετρελαίου), μονάδας κλασμάτωσης υδρογονοαποθειμένου αποστάγματος και υδρογονοαποθειμένης νάφθας, απαλλαγμένο οξέος Πετρελαϊκό αέριο Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογανθράκων που λαμβάνεται από κλασμάτωση υδρογονοαποθειωμένης νάφθας και αποσταγμάτων ρευμάτων υδρογονανθράκων και που υφίσταται κατεργασία, για να απομακρυνθούν όξινες προσμίξεις . Συνίσταται κυρίως από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5.]	H K	269-626-1	68308-06-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-187-00-6	αέριο ουράς (πετρελαίου), απογυμνωτήρα υδρογονοαποθειωμένου ακάθαρτου πετρελαίου κενού, απαλλαγμένο υδροθείου Πετρελαϊκό αέριο Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογανθράκων που λαμβάνεται από	H K	269-627-7	68308-07-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	σταθεροποίηση απογυμνωμένου καταλυτικά υδρογονοαποθειωμένου ακάθαρτου πετρελαίου κενού και από το οποίο έχει απομακρυνθεί υδρόθειο με κατεργασία αμίνης. Συνίσταται κυρίως από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_6.]							
649-188-00-1	αέριο ουράς (πετρελαίου), σταθεροποιητήρα ελαφράς απευθείας νάφθας, απαλλαγμένης υδροθείου Πετρελαϊκό αέριο Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογανθράκων που λαμβάνεται από σταθεροποίηση κλασμάτωσης από ελαφρά απευθείας νάφθα και από την οποία έχει απομακρυνθεί υδρόθειο με κατεργασία αμίνης. Συνίσταται κυρίως από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_5.]	H K	269-629-8	68308-09-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-189-00-7	αέριο ουράς (πετρελαίου), αποαιθανιωτήρα τροφοδοσίας αλκυλίωσης προπανίου-προπυλενίου Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογανθράκων που λαμβάνεται από την απόσταξη προϊόντων αντίδρασης προπανίου με προπυλένιο. Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_4.]	H K	269-631-9	68308-11-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-190-00-2	αέριο ουράς πετρελαίου), υδρογονοαποθειωτήρια ακάθαρτου πετρελαίου κενού απαλλαγμένου από υδροθείου Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογανθράκων που	H K	269-632-4	68308-12-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
	λαμβάνεται από καταλυτική υδρογονοαποθείωση ακαθάρτου πετρελαίου κενού και από το οποίο έχει απομακρυνθεί υδρόθειο με κατεργασία αμίνης. Συνίσταται κυρίως από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_6.]							
649-191-00-8	αέρια (πετρελαίου), προϊόντα κορυφής καταλυτικής πυρόλυσης Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογανθράκων που παράγεται με την απόσταξη προϊόντων από την καταλυτική πυρόλυση. Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_3 ως και C_5 και βράζει στην περιοχή από -48°C ως 32 °C (-54°F ως 90 °F) περίπου.]	H K	270-071-2	68409-99-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-193-00-9	αλκάνια, C_{1-2} Πετρελαϊκό αέριο	H K	270-651-5	68475-57-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-194-00-4	αλκάνια, C_{2-3} Πετρελαϊκό αέριο	H K	270-652-0	68475-58-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-195-00-X	αλκάνια, C_{3-4} Πετρελαϊκό αέριο	H K	270-653-6	68475-59-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-196-00-5	αλκάνια, C_{4-5} Πετρελαϊκό αέριο	H K	270-654-1	68475-60-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-197-00-0	καύσιμα αέρια Πετρελαϊκό αέριο [Συνδυασμός ελαφρών αερίων . Συνίσταται κυρίως από υδρογόνο ή και υδρογονάνθρακες μικρού μοριακού βάρους.]	H K	270-667-2	68476-26-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-198-00-6	αέρια (πετρελαίου), αποστάγματα αργού πετρελαίου Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός	H K	270-670-9	68476-29-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
	ελαφρών αερίων που παράγεται με απόσταξη αργού πετρελαίου και καταλυτική αναμόρφωση νάφθας. Συνίσταται από υδρογόνο και υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_4 και με περιοχή βρασμού από -217°C ως -12 °C (-423°F ως 10 °F) περίπου.]							
649-199-00-1	υδρογονάνθρακες, C_{3-4} Πετρελαϊκό αέριο	H K	270-681-9	68476-40-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-200-00-5	υδρογονάνθρακες, C_{4-5} Πετρελαϊκό αέριο	H K	270-682-4	68476-42-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-201-00-0	υδρογονάνθρακες, C_{2-4}, πλούσιοι σε C_3 Πετρελαϊκό αέριο	H K	270-689-2	68476-49-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-202-00-6	πετρελαίου αέρια, υγροποιημένα Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογανθράκων που λαμβάνεται με την απόσταξη αργού πετρελαίου. Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_3 ως και C_7 και με περιοχή βρασμού από -40°C ως 80 °C (40°F ως 176 °F) περίπου.]	HKS	270-704-2	68476-85-7	F+; R12 Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	F+; T R: 12-45-46 S: 53-45		
649-203-00-1	πετρελαίου αέρια, υγροποιημένα, γλυκασμένα Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογανθράκων που λαμβάνεται από υγροποιημένο αέριο μείγμα πετρελαίου με γλύκανση, για να μετατραπούν μερκαπτάνες ή να απομακρυνθούν οι όξινες προσμίξεις. Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_3 ως και C_7 και	HKS	270-705-8	68476-86-8	F+; R12 Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	F+; T R: 12-45-46 S: 45-53		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	με περιοχή βρασμού από - 40°C ως 80 °C (40°F ως 176 °F) περίπου.]							
649-204-00-7	αέρια (πετρελαίου), C_{3-4}, πλούσια σε ισοβουτάνιο Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογανθράκων από την απόσταξη κορεσμένων και ακόρεστων υδρογονανθράκων με αριθμό ατόμων άνθρακα, που συνηθως κυμαίνεται από C_3 ως και C_6, κυρίως βουτάνιο και ισοβουτάνιο. Συνίσταται από κορεσμένους και ακόρεστους υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα στην περιοχή από C_3 ως και C_4, κυρίως ισοβουτάνιο.]	H K	270-724-1	68477-33-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-205-00-2	αποστάγματα (πετρελαίου), C_{3-6}, πλούσια σε πιπερυλένιο Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογανθράκων από την απόσταξη κορεσμένων και ακόρεστων αλειφατικών υδρογονανθράκων με αριθμό ατόμων άνθρακα, που συνηθως κυμαίνεται από C_3 ως και C_6. Συνίσταται από κορεσμένους και ακόρεστους υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα στην περιοχή από C_3 ως και C_6, κυρίως πιπερυλένια.]	H K	270-726-2	68477-35-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-206-00-8	αέρια (πετρελαίου, προϊόντα κορυφής διαχωριστήρα βουτανίου Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογανθράκων που λαμβάνεται από την απόσταξη του ρεύματος βουτανίου. Συνίσταται από αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως από C_3 και C_4.]	H K	270-750-3	68477-69-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-207-00-3	αέρια (πετρελαίου), C_{2-3} Πετρελαϊκό αέριο	H K	270-751-9	68477-70-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	Αριθ. ΕΚ	Αριθ. CAS	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	[Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογανθράκων που παράγεται με την απόσταξη προϊόντων καταλυτικής κλασμάτωσης. Περιέχει κυρίως αιθάνιο, αιθυλένιο, προπάνιο και προπυλένιο.					S: 53-45		
649-208-00-9	αέρια (πετρελαίου), προϊόντων πυθμένα αποπροπανιωτήρα καταλυτικώς πυρολυμένου ακαθάρτου πετρελαίου, πλούσια σε C_4 ελεύθερα οξέος Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογανθράκων που λαμβάνεται από κλασμάτωση ρεύματος υδρογονανθράκων, καταλυτικώς πυρολυμένου ακάθαρτου πετρελαίου και κατεργασία για να απομακρυνθούν το υδρογόνο, το υδρόθειο και άλλα όξινα συστατικά. Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα στην περιοχή από C_3 ως και C_5, κυρίως C_4.	H K	270-752-4	68477-71-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-209-00-4	αέρια (πετρελαίου), προϊόντων πυθμένα αποβουτανιωτήρα καταλυτικώς πυρολυμένης νάφθας, πλούσια σε C_{3-5} Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογανθράκων που λαμβάνεται από τη σταθεροποίηση καταλυτικά πυρολυμένης νάφθας. Συνίσταται από αλειφατικούς υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_3 ως και C_5.]	H K	270-754-5	68477-72-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-210-00-X	αέριο ουράς (πετρελαίου), σταθεροποιητήρα κλασμάτωσης ισομερισμένης νάφθας Πετρελαϊκό αέριο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογανθράκων που λαμβάνεται από τη σταθεροποίηση κλασμάτωσης	H K	269-628-2	68308-08-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R45	T R: 45-46 S: 53-45		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Β

Αριθ. καταλόγου	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**Αριθ. ΕΚ**	**Αριθ. CAS**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Όρια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
	προϊόντων από ισομερισμένη νάφθα. Συνίσταται κυρίως από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_1 ως και C_4.]							
649-224-00-6	καύσιμα ντήζελ Πετρέλαιο μη προδιαγεγραμμένο [Πολύπλοκος συνδυασμός υδρογανθράκων που παράγεται με την απόσταξη αργού πετρελαίου. Συνίσταται από υδρογονάνθρακες με αριθμό ατόμων άνθρακα κυρίως στην περιοχή από C_9ως και C_{20} και βράζει στην περιοχή από 163°C ως 357°C (325°F ως 675°F) περίπου.]	H N	269-822-7	68334-30-5	Carc. Cat. 3; R40	Xn R: 40 S: (2-)36/37		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
005-009-00-3	βουτυλοτριφαινυλοβορικό τετραβουτυλαμμώνιο		418-080-4	120307-06-4	R 43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-56-61		
005-010-00-9	τετράκις(πενταφθοροφαινυλο) βορικό N,N-διμεθυλανιλίνι ο		422-050-6	118612-00-3	Carc.Cat.3; R40 Xn; R22 Xi; R38-41	Xn R: 22-38-40-41 S: (2-)22-26-36/37/39		
005-012-00-X	Βουτυλοοτριφαινυλοβορικό διαιθυλο{4-[1,5,5-τρις(4-διαιθυλαμινοφαινυλο)πεντα-2,4-διενυλιδενο]κυκλοεξα-2,5-διενυλιδενο}αμμώνιο		418-070-1	141714-54-7	R 43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-60-61		
011-007-00-3	μετα νατρίου άλας της προποξυκαρβαζόνης		-	-	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61	C ≥ 2,5 %: N; R50/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: N; R51/53 0,025 ≤ C < 0,25 %: R52/53	
013-009-00-X	((ν.-βουτυλ)x(αιθυλ)y-1,5-διυδρο)αργιλικό) νάτριο, όπου x = 0,5 y = 1,5		418-720-2	-	F; R11 R14/15 R 17 Xn; R20 C; R35	F; C R: 11-14/15-17-20-35 S: (1/2-)6-16-26-30-36/37/39-43-45		
014-026-00-5	διχλωρο-(3-(3-χλωρο-4-φθοροφαινυλο)προπυλο)μεθυλοσιλάνιο		407-180-3	-	C; R35	C R: 35 S: (1/2-)26-36/37/39-45		
014-027-00-0	χλωρο(3-(3-χλωρο-4-φθοροφαινυλο)προπυλο)διμεθυλοσιλάνιο		410-270-5	-	C; R35	C R: 35 S: (1/2-)8-26-28-36/37/39-45		
014-028-00-6	α-[3-(1-οξοπροπ-2-ενυλ-1-οξυπροπυλο]διμεθοξυσιλυλοξυ-ω-[3(1οξοπροπ-2-ενυλ)-1-οξυπροπυλο]διμεθοξυσιλυλο πολυ(διμεθυλοσιλοξάνιο)		415-290-8	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
014-029-00-1	O,O΄-(αιθενυλομεθυλοσιλυλενο)δι[(4-μεθυλοπενταν-2-ον)οξίμη		421-870-1	-	Repr.Cat.3; R62 Xn; R22-48/22	Xn R: 22-48/22-62 S: (2-)36/37		
014-030-00-7	[(διμεθυλοσιλυλενο)δις((1,2,3,3α, 7α-η)-1Η-ινδεν-1-υλιδενο)διμεθυλ]άφνιο		422-060-0	137390-08-0	T+; R28	T+ R: 28 S: (1/2-)6-22-28-36/37-45		
014-031-00-2	δις(1-μεθυλαιθυλο)-διμεθοξυσιλάνιο		421-540-7	18230-61-0	R 10 Xi; R38 R43 R 52-53	Xi R: 10-38-43-52/53 S: (2-)24-37-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
014-032-00-8	δικυκλοπεντυλοδιμεθοξυσιλάνιο		404-370-8	126990-35-0	Xi; R38-41 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-50/53 S: (2-)26-37/39-60-61		
015-180-00-6	[R-(R*,S*)]-[[2-μεθυλο-1-(1-οξοπροποξυ)προποξυ]-(4-φαινυλοβουτυλο)φωσφινυλ]οξικό οξύ, (-)-άλας κιγχονιδίνης (1:1)		415-820-8	137590-32-0	Xi; R41 R 43 R 52-53	Xi R: 41-43-52/53 S: (2-)24-26-37/39-61		
015-181-00-1	φωσφίνη		232-260-8	7803-51-2	F+; R12 R17 T+; R26 C; R34 N; R50	F+; T+; N R: 12-17-26-34-50 S: (1/2-)28-36/37-45-61-63		
015-184-00-8	άλατα glyphosate, εξαιρουμένων εκείνων που αναφέρονται σε άλλα σημεία του παρόντος Παραρτήματος		-	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
015-186-00-9	chlorpyrifos-methyl		227-011-5	5598-13-0	R43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)36/37-60-61	C ≥ 1 %: N; R43-50-53 0,0025 % ≤C < 1 %: N; R50-53 0,00025 % ≤C < 0,0025 %: N; R51-53 0,000025 % ≤C < 0,00025 %: R52-53	
015-187-00-4	Μείγμα από: N-οξείδιο (((2-υδροξυαιθυλ)ιμινο)-δις(μεθυλενο))διφωσφονικού τετρανατρίου, N-οξείδιο, P-οξείδιο ((τετραϋδρο-2-υδροξυ-4H-1,4,2-οξαζαφωσφοριν-4-υλο)-μεθυλο)φωσφονικού τρινατρίου		417-540-1	-	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		
015-189-00-5	οξείδιο της φαινυλοδις(2,4,6-τριμεθυλοβενζοϋλο)φωσφίνης		423-340-5	162881-26-7	R43 R53	Xi R: 43-53 S: (2-)22-24-37-61		
016-086-00-8	10-αμινο-6,13-διχλωρο -3-(3-(4-(2,5-δισουλφονικοανιλινο)-6-φθορο-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο)προπ-3-υλαμινο)- -5,12-διοξα-7,14-διαζαπεντακενο-4,11-δισουλφονικό τετρανάτριο		402-590-9	109125-56-6	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
016-087-00-3	Μίγμα από: δις εξαφθορο φωσφορικο θειοδις(4,1-φαινυλενο)-S,S,S΄,S΄-τετραφαινυλοδισουλφονιο, εξαφθοροφωσφορικο διφαινυλο(4-		403-490-8	74227-35-3	Xi; R36 R 43 N; R50-53	Xi; N R: 36-43-50/53 S: (2-)24-26-37-60-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	φαινυλοθειοφαινυλο)σουλφονιο, ανθρακικο προπυλένιο							
016-088-00-9	4-(δις(4-(διαιθυλαμινο)φαινυλο)μεθυλο) βενζολο-1,2-διμεθανοσουλφονικό οξύ		407-280-7	71297-11-5	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
016-089-00-4	Μίγμα εστέρων του: 5,5΄,6,6΄,7,7΄-εξαυδροξυ-3,3,3΄,3΄-τετραμεθυλο-1,1΄-σπειροδιςινδανίου και 2-διαζω-1,2-διυδρο-1-οξο-5-σουλφοναφθαλινίου		413-840-1	-	E; R2 F; R11 R 53	E R: 2-11-53 S: (2-)33-35-40-61		
016-090-00-X	4-μεθυλο-N-(μεθυλοσουλφονυλο)βενζολοσουλφοναμίδιο		415-040-8	14653-91-9	Xn; R22 Xi; R37-41	Xn R: 22-37-41 S: (2-)26-39		
016-091-00-5	1-αμινο-9,10-διυδρο-9,10-διοξο-4-(2,4,6-τριμεθυλανιλινο)-ανθρακενο-2-σουλφονικό C12-14-tert-αλκυλαμμώνιο		414-110-5	-	Xi; R41 N; R50-53	Xi; N R: 41-50/53 S: (2-)26-39-60-61		
016-093-00-6	Μίγμα 2:1 από: 4-υλ ο-τρις(6-διαζο-5,6-διυδρο-5-οξοναφθαλινο-1-σουλφονικη 4-(7-υδροξυ-2,4,4-τριμεθυλο-2-χρωμανυλο)ρεζορκινολη- , δις(6-διαζο-5,6-διυδρο-5-οξοναφθαλενο-1-σουλφονική 4-(7-υδροξυ-2,4,4-τριμεθυλο-2-χρωμανυλο)ρεζορκινόλη		414-770-4	140698-96-0	F; R11 Carc.Cat.3; R40	F; Xn R: 11-40 S: (2-)7-36/37		
016-095-00-7	Μίγμα: προϊόντος αντιδράσεως 4,4'-μεθυλενοδις[2-(4-υδροξυβενζυλο)-3,6-διμεθυλοφαινόλης] και 6-διαζω-5,6-διυδρο-5-οξο-ναφθαλινοσουλφονικοϋ εστέρα (1:2); προϊόντος αντιδράσεως 4,4'-μεθυλενοδις[2-(4-υδροξυβενζυλο)-3,6-διμεθυλοφαινόλης] και 6-διαζω-5,6-διυδρο-5-οξο-ναφθαλινοσουλφονικού εστέρα (1:3)		417-980-4	-	F; R11 Carc.Cat.3; R40	F; Xn R: 11-40 S: (2-)7-36/37		
016-096-00-2	thifensulfuron-methyl		-	79277-27-3	N; R50-53	N		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
						R: 50/53 S: 60-61		
017-015-00-3	υδροχλωρικό (2-(αμινομεθυλο)φαινυλ)ακετυλοχλωρίδιο		417-410-4	61807-67-8	Xn; R22 C; R35 R43	C R: 22-35-43 S: (1/2-)26-36/37/39-45		
017-016-00-9	μεθυλοτριφαινυλοφωσφονιοχλωρίδιο		418-400-2	1031-15-8	Xn; R21/22 Xi; R38-41 N; R51-53	Xn; N R: 21/22-38-41-51/53 S: (2-)22-26-36/37/39-61		
017-017-00-4	Χλωριούχο (Z)-13-εικοσιδυενυλο-N,N-δις(2-υδροξυαιθυλο)-N-μεθυλ-αμμώνιο		426-210-6	120086-58-0	C; R34 N; R50-53	C; N R: 34-50/53 S: (2-)26-36/37/39-45-60-61		
017-018-00-X	Χλωριούχο N,N,N-τριμεθυλο-2,3-δις(στεατοϋλοξυ)προπυλαμμωνιο		405-660-7	-	N;R51-53	N R: 51/53 S: 61		
017-019-00-5	υδροχλωριούχος (R)-1,2,3,4-τετραϋδρο-6,7-διμεθοξυ-1-βερατρυλισοκινολίνη		415-110-8	54417-53-7	Xn; R22 R52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)22-61		
017-020-00-0	αιθυλ- προποξυ- χλωριούχο αργίλιο		421-790-7	-	C; R35 F; R14/15	C; F R: 14/15-35 S: (1/2-)16-23-26-30-36/37/39-43-45		
017-021-00-6	χλωριοϋχο βεχεναμιδοπροπυλο-διμεθυλο-(διυδροξυπροπυλ)αμμώνιο		423-420-1	136920-10-0	Xi; R41 R43 N; R50-53	Xi; N R: 41-43-50/53 S: (2-)26-36/37/39-60-61		
020-003-00-0	Μείγμα από: (δις(2-υδροξυ-5-τετρα-προπενυλοφαινυλομεθυλο)μεθυλαμινο)διϋδροξείδιο του διασβεστίου, (τρις(2-υδροξυ-5-τετρα-προπενυλοφαινυλομεθυλο)μεθυλαμινο)τριϋδροξείδιο του τριασβεστίου, πολυ-[((2-υδροξυ-5-τετρα-προπενυλο-φαινυλομεθυλο)μεθυλαμινο)υδροξείδιο του ασβεστίου]		420-470-4	-	Xi; R36/38 R43	Xi R: 36/38-43 S: (2-)24-26-37		
024-019-00-9	κύριο συστατικό: ανιλίδιο του ακετοξικού οξέος/ 3-αμινο-1-υδροξυβενζόλιο (ATAN-MAP): {6-[(2 ή 3 ή 4)-αμινο-(4 ή 5 ή 6)-υδροξυφαινυλαζω]-5΄-(φαινυλοσουλφαμοϋλο)-3-		419-230-1	-	R 43 R52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)22-24-37-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	σουλφονικοναφθαλινο-2-αζωβενζολο-1,2΄-διολικο{-}6΄΄-[1-(φαινυλοκαρβαμοϋλ)αιθυλαζω]-5΄΄΄-(φαινυλοσουλφαμοϋλο)-3΄΄-σουλφονατοναφθαλινο-2΄΄-αζωβενζολο-1΄΄,2΄΄΄-διολικο}χρωμικό (ΙΙΙ) τρινάτριο; υποπροϊόν 1: ανιλίδιο του ακετοξικού οξέος/ανιλίδιο του ακετοξικού οξέος (ATAN-ATAN): δις{6-[1-(φαινυλοκαρβαμοϋλ)αιθυλαζω]-5΄-(φαινυλοσουλφονυλο)-3-σουλφονικοναφθαλινο-2-αζωβενζολο-1,2΄-διολικο}χρωμικό (ΙΙΙ) τρινάτριο; υποπροϊόν 2: 3-αμινο-1-υδροξυβενζόλιο/ 3-αμινο-1-υδροξυβενζόλιο (MAP-MAP): δις{6-[(2 ή 3 ή 4)-αμινο-(4 ή 5 ή 6)-υδροξυφαινυλαζω]-5΄-(φαινυλοσουλφαμοϋλο)-3-σουλφονικοναφθαλινο-2-αζωβενζολο-1,2΄-διολικο} χρωμικό (ΙΙΙ) τρινάτριο							
024-020-00-4	δις[(3'-νιτρο-5'-σουλφονικο-(6-αμινο-2-[4-(2-υδροξυ-1-ναφθυλαζω)φαινυλοσουλφονυλαμινο]πυριμιδιν-5-αζω)βενζολο-2',4-διολικο)]χρωμικό (ΙΙΙ) τρινάτριο		418-220-4	-	R43 R52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)22-24-37-61		
025-005-00-5	Μείγμα από: [29H, 31H-φθαλοκυανινο-C,C,C-τρισουλφονικο (6-)-N29,N30,N31,N32] μαγγανικό(3-) τρινάτριο; [29H,31H-φθαλοκυανινο-C,C,C,C-τετρασουλφονικο (6-)-N29,N30,N31,N32]μαγγανικό(3-) τετρανάτριο; [29H,31H-φθαλοκυανινο-C,C,C,C,C-πεντασουλφονικο (6-)-N29,N30,N31,N32]μαγγανικό(3-) πεντανάτριο		417-660-4	-	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
029-012-00-4	το μετά νατρίου άλας του ((N-(3-τριμεθυλαμμωνιοπροπυλο)σουλφαμοϋλο)σουλφονικοφθαλοκυανιν		407-340-2	124719-24-0	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	ικο) χαλκού(II)							
029-013-00-X	τρινάτριο άλας του (2-(α-(3-(4-χλωρο -6-(2-(2-(βινυλοσουλφονυλ)αιθοξυ)αιθυλαμινο)-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο)-2-οξειδο-5-σουλφονικοφαινυλαζω)βενζυλιδένυδραζινο)-4-σουλφονικοβενζοϊκο) χαλκός(II)		407-580-8	130201-51-3	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)24-37-61		
030-011-00-6	δις(ορθοφωσφορικός) τριψευδάργυρος		231-944-3	7779-90-0	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
030-013-00-7	οξείδιο του ψευδαργύρου		215-222-5	1314-13-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
034-003-00-3	σεληνιώδες νάτριο		233-267-9	10102-18-8	T+; R28 T; R23 R31 R43 N; R51-53	T+; N R: 23-28-31-43-51/53 S: (1/2-)28-36/37-45-61		
053-005-00-5	τετράκις(πενταφθοροφαινυλο)βορικό (1-) (4-(1-μεθυλαιθυλο)φαινυλο)-(4-μεθυλοφαινυλ)ιωδώνιο		422-960-3	178233-72-2	Xn; R21/22-48/22 N; R50-53	Xn; N R: 21/22-48/22-50/53 S: (2-)22-36/37-60-61		
601-056-00-4	Μίγμα από ισομερή του: μεθυλοδιφαινυλομεθανίου, διμεθυλοδιφαινυλομεθανίου		405-470-4	-	Xi; R38 N; R50-53	Xi; N R: 38-50/53 S: (2-)37-60-61		
601-057-00-X	τοζυλικό N-δωδεκυλο-[3-(4-διμεθυλαμινο)βενζαμιδο)-προπυλο]διμεθυλαμμώνιο		421-130-8	156679-41-3	Xi; R41 R43 N; R50-53	Xi; N R: 41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61		
601-058-00-5	δι-L-p-μενθίνιο		417-870-6	-	Xi; R38 R 43 N; R50-53	Xi; N R: 38-43-50/53 S: (2-)23-24-37-60-61		
601-059-00-0	2-βενζυλιδενο-3-οξυβουτυρικός μεθυλεστέρας		420-940-9	15768-07-7	Xi; R36/38 N; R51-53	Xi; N R: 36/38-51/53 S: (2-)26-37/39-61		
601-060-00-6	1,2-δις-[4-φθορο-6-{4-σουλφο-5-(2-(4-σουλφοναφθαλιν-3-υλαζω)-1-υδροξυ-3,6-δισουλφο-8-αμινο-ναφθαλιν-7-υλαζω)-φαινυλαμινο}-1,3,5-τριαζιν-2υλαμινο]αιθάνιο: άλατα x-νατρίου, y-καλίου, όπου x = 7,755 y = 0,245		417-610-1	155522-09-1	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
601-061-00-1	(αιθυλο-1,2-αιθανοδιυλ)[-2[[[(2-υδροξυαιθυλο)μεθυλαμινο]ακετυλο]-προπυλο]ω-(εννεϋλοφαινοξυ)πολυ]οξυ-(μεθυλ-1,2-αιθανοδιϋλιο)		418-960-8	-	C; R34 R 43 N; R51-53	C; N R: 34-43-51/53 S: (1/2-)26-28-36/37/39-45-61		
601-062-00-7	Μείγμα από: διακλαδισμένο τριακοντάνιο, διακλαδισμένο τριακονταδυάνιο, διακλαδισμένο τριακοντατετράνιο, διακλαδισμένο τριακονταεξάνιο		417-030-9	151006-59-6	R 53	R: 53 S: 61		
601-063-00-2	Μίγμα ισομερών διακλαδισμένου εικοσιτετρανίου		417-060-2	151006-61-0	Xn; R20 R53	Xn R: 20-53 S: (2-)61		
601-064-00-8	διακλαδισμένο τριακονταεξάνιο		417-070-7	151006-62-1	R53	R: 53 S: 61		
601-065-00-3	Μείγμα από: (1΄-α,3΄-α,6΄-α-2,2,3΄,7΄,7΄-πενταμεθυλοσπειρο(1,3-διοξανο-5,2΄-νορκαράνιο) (1΄α,3΄β,6΄α)-2,2,3΄,7΄,7΄-πενταμεθυλοσπειρο(1,3-διοξανο-5,2΄-νορκαράνιο)		416-930-9	-	Xn; R48/22 Xi; R41 N; R51-53	Xn; N R: 41-48/22-51/53 S: (2-)22-26-37/39-61		
601-066-00-9	1-(4-(trans-4-επτυλοκυκλοεξυλο)φαινυλ)αιθάνιο		426-820-2	78531-60-9	R43 R53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
601-067-00-4	αρσενικικό τριαιθύλιο		427-700-2	15606-95-8	Carc.Cat.1; R45 T; R23/25 N; R50-53	T; N R: 45-23/25-50/53 S: 53-45-60-61		
601-068-00-X	1,2-διακετοξυβουτ-3-ένιο		421-720-5	18085-02-4	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)		
601-069-00-5	βρωμιούχο 2-αιθυλο-1-(2-(1,3-διοξανυλ)αιθυλο)-πυριδίνιο		422-680-1	-	R52-53	R: 52/53 S: 61		
601-071-00-6	1-διμεθοξυμεθυλο-2-νιτρο-βενζόλιο		423-830-9	20627-73-0	R43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61		
601-073-00-7	1-βρωμο-3,5-διφθοροβενζόλιο		416-710-2	461-96-1	R10 Xn; R22-48/22 Xi; R38 R43 N; R50-53	Xn; N R: 10-22-38-43-48/22-50/53 S: (2-)24-36/37-60-61		
601-074-00-2	Μείγμα από: 4-(2,2,3-τριμεθυλοκυκλοπεντ-3-εν-1-υλο)-		422-040-1	-	Xi; R36/38 N; R51-53	Xi; N R: 36/38-51/53		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Όρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	1-μεθυλ-2-οξαδικυκλο[2.2.2]οκτάνιο, 1-(2,2,3-τριμεθυλοκυκλοπεντ-3-εν-1-υλ)-5-μεθυλο-6-οξαδικυκλο[3.2.1]οκτάνιο, σπειρο[κυκλοεξ-3-εν-1-υλ-[(4,5,6,6a-τετραϋδρο-3,6΄,6΄,6΄a-τετραμεθυλο)-1,3΄(3΄aH)-[2H]κυκλοπεντα[b]φουράνιο], σπειρο[κυκλοεξ-3-εν-1-υλ-[(4,5,6,6a-τετραϋδρο-4,6΄,6΄,6΄a-τετραμεθυλο)-1,3΄(3΄aH)-[2H]κυκλοπεντα[b]φουράνιο]					S: (2-)26-37-61		
602-093-00-9	α,α,α,4-τετραχλωροτολουόλιο p-χλωροβενζοτριχλωρίδιο	E	226-009-1	5216-25-1	Carc.Cat.2; R45 Repr.Cat.3; R62 T; R48/23 Xn; R21/22 Xi; R37/38	T R: 45-21/22-37/38-48/23-62 S: 53-45		
602-094-00-4	διφαινυλαιθέρας· οκταβρωμο παράγωγο		251-087-9	32536-52-0	Repr.Cat.2; R61 Repr.Cat.3; R62	T R: 61-62 S: 53-45		
602-096-00-5	μαλαχίτης πράσινος υδροχλωριούχος [1] μαλαχίτης πράσινος οξαλικός [2]		209-322-8 [1] 219-441-7 [2]	569-64-2 [1] 18015-76-4 [2]	Xn; R22 Xi; R41 Repr. Cat. 3; R63 N; R50-53	Xn; N R: 22-41-63-50/53 S: (2-)26-36/37-39-46-60-61		
602-097-00-0	1-βρωμο-9-(4,4,5,5,5-πενταφθοροπεντυλοθειο)εννεάνιο		422-850-5	148757-89-5	R43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-60-61		
603-167-00-3	3,3΄,5,5΄-τετρα-tert-βουτυλοδιφαινυλο-2,2΄-διόλη		407-920-5	6390-69-8	R 53	R: 53 S: 61		
603-168-00-9	3-(2-αιθυλεξυλοξυ)προπανο-1,2-διόλη		408-080-2	70445-33-9	Xi; R41 R 52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
603-169-00-4	(+/-)-trans-4-(4-φθοροφαινυλ)-3-υδροξυμεθυλο-N-μεθυλοπιπεριδίνη		415-550-0	109887-53-8	Xn; R22 Xi; R41 N; R51-53	Xn; N R: 22-41-51/53 S: (2-)22-26-39-61		
603-170-00-X	Μίγμα: 2-μεθυλο-1-(6-μεθυλοδικυκλο[2.2.1]επτ-5-εν-2-υλο)πεντ-1-εν-3-όλης, 2-μεθυλο-1-(1-μεθυλοδικυκλο[2.2.1]επτ-5-εν-2-υλο)πεντ-1-εν-3-όλης, 2-μεθυλο-1-(5-μεθυλοδικυκλο[2.2.1]επτ-5-εν-2-		415-990-3	67739-11-1	Xi; R36 N; R51-53	Xi; N R: 36-51/53 S: (2-)26-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**EC No**	**CAS No**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Ορια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
	υλο)πεντ-1-εν-3-όλης							
603-171-00-5	5-θειαζολυλομεθανόλη		414-780-9	38585-74-9	Xi; R41 R 52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
603-172-00-0	trans-βουτενοδική μονο-2-[2-(4-διβενζο[b,f][1,4]θειαζεπιν-11-υλο)πιπεραζινιο-1-υλ]αιθοξυ)αιθανόλη		415-180-1	-	Xn; R22 Xi; R41 N; R51-53	Xn; N R: 22-41-51/53 S: (2-)22-26-39-61		
603-173-00-6	4,4-διμεθυλο-3,5,8-τριοξαδικυκλο[5.1.0]οκτάνιο		421-750-9	57280-22-5	Xi; R36 R 43	Xi R: 36-43 S: (2-)26-36/37		
603-174-00-1	2-κυκλοεξυλο-2-μεθυλο-2-βουτανόλη		420-630-3	83926-73-2	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		
603-175-00-7	2-(2-εξυλοξυαιθοξυ)αιθανόλη DEGHE μονοεξυλαιθέρας της διαιθυλενογλυκόλης 3,6-διοξα-1-δωδεκανόλη εξυλοκαρβιτόλη 3,6-διοξαδωδεκαν-1-όλη		203-988-3	112-59-4	Xn; R21 Xi; R41	Xn R: 21-41 S: (2-)26-36/37-46		
603-176-00-2	1,2-δις(2-μεθοξυαιθοξυ)αιθάνιο TEGDME διμεθυλαιθέρας της τριαιθυλενογλυκόλης triglyme		203-977-3	112-49-2	R19 Repr. Cat.2; R61 Repr. Cat.3; R62	T R: 61-19-62 S: 53-45		
603-177-00-8	1-αιθοξυπροπαν-2-όλη 2PG1EE 1-αιθοξυ-2-προπανόλη μονοαιθυλαιθέρας της προπυλενογλυκόλης [1] οξικός 2-αιθοξυ-1-μεθυλαιθυλεστέρας 2PG1EEA [2]		216-374-5 [1] 259-370-9 [2]	1569-02-4 [1] 54839-24-6 [2]	R10 R67	R: 10-67 S: (2-)24		
603-178-00-3	2-εξυλοξυαιθανόλη μονοεξυλαιθέρας της αιθυλενογλυκόλης n-εξυλογλυκόλη		203-951-1	112-25-4	Xn R21/22 C; R34	C R: 21/22-34 S: (1/2-)26-36/37/39-45		
603-179-00-9	εργοκαλσιφερόλη (Βιταμίνη D2)		200-014-9	50-14-6	T+; R26 T; R24/25-48/25	T+ R: 24/25-26-48/25 S: (1/2-)28-36/37-45		
603-180-00-4	κολεκαλσιφερόλη (Βιταμίνη D3)		200-673-2	67-97-0	T+; R26 T; R24/25-48/25	T+ R: 24/25-26-48/25 S: (1/2-)28-36/37-45		
603-181-00-X	tert-βουτυλο-μεθυλαιθέρας		216-653-1	1634-04-4	F; R11 Xi; R38	F; Xi R: 11-38 S: (2-)9-16-24		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	MTBE 2-μεθοξυ-2-μεθυλοπροπάνιο							
603-183-00-0	2-[2-(2-βουτοξυαιθοξυ)αιθοξυ]αιθανόλη TEGBE μονοβουτυλαιθέρας της τριαιθυλενογλυκόλης βουτοξυτριαιθυλενογλυκόλη		205-592-6	143-22-6	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39-46	C ≥ 30 %: Xi; R41 20 % ≤ C < 30 %: Xi; R36	
603-184-00-6	2-(υδροξυμεθυλ)-2-[[2-υδροξυ-3-(ισοδεκαοκτυλοξυ) προποξυ]μεθυλο]-1,3-προπανοδιόλη		416-380-1	146925-83-9	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
603-185-00-1	2,4-διχλωρο-3-αιθυλο-6-νιτροφαινόλη		420-740-1	99817-36-4	T; R25 Xi; R41 R43 N; R50-53	T; N R: 25-41-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61		
603-186-00-7	trans-(5RS,6SR)-6-αμινο-2,2-διμεθυλο-1,3-διοξεπαν-5-όλη		419-050-3	79944-37-9	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24/25-26-37		
603-187-00-2	διχλωριούχος 2-((4,6-δις-(4-(2-(1-μεθυλο-πυριδινιο-4-υλο)-βινυλο)-φαινυλαμινο)-1,3,5-τριαζιν-2-υλ)-(2-υδροξυ-αιθυλ)-αμινο)- αιθανόλη		419-360-9	163661-77-6	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
603-189-00-3	Μίγμα συμπλόκων: τιτανίου, 2,2΄-οξυδιαιθανόλης, γαλακτικού αμμωνίου, νιτριλοτρις(2-προπανόλης) και αιθυλενογλυκόλης		405-250-8	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
603-191-00-4	2-(4,6-δις(2,4-διμεθυλοφαινυλο)-1,3,5-τριαζιν-2-υλ)-5-(3-((2-αιθυλεξυλ)οξυ)-2-υδροξυπροποξυ)φαινόλη		419-740-4	137658-79-8	R53	R: 53 S: 61		
603-195-00-6	2-[4-(4-μεθοξυφαινυλο)-6-φαινυλ-1,3,5-τριαζιν-2-υλο]φαινόλη		430-810-3	154825-62-4	R52-53	R: 52/53 S: 61		
603-196-00-1	2-(7-αιθυλ-1H-ινδολ-3-υλ)αιθανόλη		431-020-1	41340-36-7	Xn; 22-48/22 N; R51-53	Xn; N R: 22-48/22-51/53 S: (2-)36/37/39-61		
603-197-00-7	1-(4-χλωροφαινυλο)-4,4-διμεθυλο-3-(1,2,4-τριαζωλ-1-υλομεθυλο)πενταν-3-όλη		403-640-2	107534-96-3	Repr.Cat.3; R63 Xn; R22 N; R51-53	Xn; N R: 22-51/53-63 S: (2-)22-36/37-61		
603-199-00-8	etoxazol		-	153233-91-1	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61	C ≥ 0.25 %: N; R50/53 0.025 % ≤ C < 0.25 %: N; R51/53	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευάσματα
							0.0025 % ≤ C < 0.025 %: R52/53	
604-065-00-1	4,4',4''-(1-μεθυλοπροπαν-1-υλο-3-υλιδενο)τρις(2-κυκλοεξυλο-5-μεθυλοφαινόλη)		407-460-5	111850-25-0	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
604-066-00-7	Μείγμα από: φαινόλη, 6-(1,1-διμεθυλαιθυλο)-4-τετραπροπυλο-2-[(2-υδροξυ-5-τετρα-προπυλοφαινυλο)μεθυλο (ένωση C41) και μεθάνιο, 2,2΄-δις[6-(1,1-διμεθυλαιθυλ)-1-υδροξυ-4-τετραπροπυλοφαινυλο)] - (ένωση C45), 2,6-δις(1,1-διμεθυλαιθυλο)-4-τετραπροπυλο-φαινόλη και 2-(1,1-διμεθυλαιθυλο)-4-τετραπροπυλο-φαινόλη 2,6-δις[(6-(1,1-διμεθυλαιθυλ)-1-υδροξυ-4-τετραπροπυλοφαινυλο)μεθυλο]-4-(τετραπροπυλο)φαινόλη και 2-[(6-(1,1-διμεθυλαιθυλ)-1-υδροξυ-4-τετραπροπυλοφαινυλομεθυλ]-6-[1-υδροξυ-4-τετραπροπυλοφαινυλο)μεθυλο]-4-(τετραπροπυλο)φαινόλη		414-550-8	-	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
604-067-00-2	Μείγμα από: 2,2΄[[(2-υδροξυαιθυλ)ιμινο]δις(μεθυλενο) δις[4-δωδεκυλοφαινόλη] φορμαλδεΰδη, ολιγομερές με 4-δωδεκυλοφαινόλη και 2-αμινοαιθανόλη (n = 2) φορμαλδεΰδη, ολιγομερές με 4-δωδεκυλοφαινόλη και 2-αμινοαιθανόλη (n = 3, 4 και υψηλότερο)		414-520-4	-	Xi; R38-41 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-50/53 S: (2-)26-37/39-60-61		
604-068-00-8	υδροχλωρική (+/-)-4-[2-[[3-(4-υδροξυφαινυλο)-1-μεθυλοπροπυλο]αμινο]-1-υδροξυαιθυλο]-φαινόλη		415-170-5	99095-19-9	Xn; R20/22 R 43	Xn R: 20/22-43 S: (2-)24-26-37		
604-069-00-3	2-(1-μεθυλοπροπυλο)-4-tert-βουτυλοφαινόλη		421-740-4	51390-14-8	C; R34 N; R51-53	C; N R: 34-51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
604-070-00-9	triclosan 2,4,4'-τριχλωρο-2'-υδροξυ-διφαινυλαιθέρας 5-χλωρο-2-(2,4-διχλωροφαινοξυ)φαινόλη		222-182-2	3380-34-5	Xi; R36/38 N; R50-53	Xi; N R: 36/38-50/53 S: 26-39-46-60-61	C ≥ 20%: Xi, N; R36/38-50/53 0,25 % ≤ C < 20 %: N; R50/53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51/53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52/53	
605-031-00-9	Μείγμα από: 2,2-διμεθοξυαιθανάλη (η ένωση αυτή θεωρείται άνυδρη από άποψη ταυτότητας, δομής και σύνθεσης. Ωστόσο, η 2,2-διμεθοξυαιθανάλη θα υπάρξει σε ένυδρη μορφή. Το 60% της άνυδρης μορφής ισοδυναμεί στο 70,4% της ένυδρης), ύδωρ (συμπεριλαμβανομένου του ελεύθερου ύδατος και του ύδατος της ένυδρης 2,2-διμεθοξυαιθανάλης)		421-890-0	-	R43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
606-062-00-0	τετραϋδροθειοπυρανο-3-καρβοξαλδεΰδη		407-330-8	61571-06-0	Repr.Cat.2; R61 Xi; R41 R 52-53	T R: 61-41-52/53 S: 53-45-61		
606-063-00-6	(E)-3-(2-χλωροφαινυλο)-2-(4-φθοροφαινυλο)-προπενάλη		410-980-5	112704-51-5	Xi; R36 R 43	Xi R: 36-43 S: (2-)24-26-37		
606-064-00-1	δις(αιθυλενοκετάλη) της πρεγν-5-ενο-3,20-διόνης		407-450-0	7093-55-2	R 53	R: 53 S: 61		
606-065-00-7	1-(4-μορφολινοφαινυλο)βουταν-1-όνη		413-790-0	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
606-066-00-2	(E)-5-[(4-χλωροφαινυλο)μεθυλενο]-2,2-διμεθυλοκυκλοπεντανόνη		410-440-9	131984-21-9	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
606-067-00-8	Μίγμα: 1-(2,3,6,7,8,9-εξαϋδρο-1,1-διμεθυλο-1H-βενζ(g)ινδεν-4-υλ) αιθανόνης, 1-(2,3,5,6,7,8-εξαϋδρο-1,1-διμεθυλο-1H-βενζ(f)ινδεν-4-υλ)αιθανόνης, 1-(2,3,6,7,8,9-εξαϋδρο-1,1-διμεθυλο-1H-βενζ(g)ινδεν-5-υλ)αιθανόνης, 1-(2,3,6,7,8,9-εξαϋδρο-3,3-διμεθυλο-1H-βενζ(g)ινδεν-5-		414-870-8	96792-67-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	υλ)αιθανόνης							
606-068-00-3	2,7,11-τριμεθυλο-13-(2,6,6-τριμεθυλοκυκλοεξ-1-εν-1-υλο)δεκατριεξαεν-2,4,6,8,10,12-άλη		415-770-7	1638-05-7	Xn; R48/22 R 43 R 52-53	Xn R: 43-48/22-52/53 S: (2-)22-36/37-61		
606-069-00-9	σπειρο[1,3-διοξολανο-2,5΄-(4΄,4΄,8΄,8΄-τετραμεθυλο-εξαϋδρο-3΄,9΄-μεθανοναφθαλίνιο)]		415-460-1	154171-77-4	N; R51-53	N R: 51/53 S: 24-61		
606-070-00-4	5-(3-βουτυρυλ-2,4,6-τριμεθυλοφαινυλ)-2-[1-(αιθοξυιμινο)προπυλο]-3-υδροξυκυκλοεξ-2-εν-1-όνη		414-790-3	138164-12-2	Repr.Cat.3; R62-63 Xn; R22 Xi; R38 N; R50-53	Xn; N R: 22-38-62-63-50/53 S: (2-)22-36/37-60-61		
606-071-00-X	17-σπειρο(5,5-διμεθυλο-1,3-διοξαν-2-υλ)ανδροστα-1,4-διεν-3-όνη		421-050-3	13258-43-0	N; R50-53	N R: 50/53 S: 22-60-61		
606-072-00-5	3-ακετυλο-1-φαινυλο-πυρρολιδινο-2,4-διόνη		421-600-2	719-86-8	Xn; R48/22 N; R51-53	Xn; N R: 48/22-51/53 S: (2-)22-36/37-61		
606-073-00-0	4,4'-δις(διμεθυλαμινο)βενζοφαινόνη κετόνη του Michler		202-027-5	90-94-8	Carc.Cat.2; R45 Muta.Cat.3; R68 Xi; R41	T R: 45-41-68 S: 53-45		
606-075-00-1	1-βενζυλ-5-αιθοξυιμιδαζολιδινο-2,4-διόνη		417-340-4	65855-02-9	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)22		
606-076-00-7	1-((2-κινολινυλο-καρβονυλ)οξυ)-2,5-πυρρολιδινοδιόνη		418-630-3	136465-99-1	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)24-26-37/39		
606-077-00-2	(3S,4S)-3-εξυλ-4-[(R)-2-(υδροξυδεκατριακυλ)]-2-οξετανόνη		418-650-2	104872-06-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
606-078-00-8	1-οκτυλαζεπιν-2-όνη		420-040-6	59227-88-2	C; R34 R 43 N; R51-53	C; N R: 34-43-51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61		
606-079-00-3	2-n-βουτυλο-βενζο[d]ισοθειαζολ-3-όνη		420-590-7	-	C; R34 R43 N; R50-53	C; N R: 34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61		
606-080-00-9	Προϊόν αντιδράσεως: 3-υδροξυ-5,7-δι-τριτοταγούς-βουτυλοβενζοφουραν-2-όνης με ο-ξυλένιο		417-100-9	-	R 53	R: 53 S: 61		
606-081-00-4	(3β, 5α, 6β)-3-(ακετυλοξυ)-5-βρωμο-6-υδροξυ-ανδροσταν-17-		419-790-7	4229-69-0	R43 R52-53	Xi R: 43-52/53		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	όνη					S: (2-)22-36/37-61		
606-082-00-X	Μίγμα: οξίμης της βουταν-2-όνης; συν-O,O'-δι(βουταν-2-ον)οξιμη(διαιθοξυσιλανίου)		406-930-7	96-29-7	T; R48/22 R43 R52-53	T R: 43-48/25-52/53 S: (1/2-)25-36/37-45-61		
606-083-00-5	2-χλωρο-5-δευτεροταγής-δεκαεξυλυδροκινόνη		407-750-1	-	Xi; R36/38 R43 R52-53	Xi R: 36/38-43-52/53 S: (2-)24-26-37-61		
606-084-00-0	1-(4-μεθοξυ-5-βενζο φουρανυλ)-3-φαινυλο-1,3-προπανοδιόνη		414-540-3	484-33-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
606-085-00-6	(1R,4S)-2-αζαδικυκλο[2.2.1]επτ-5-εν-3-όνη		418-530-1	79200-56-9	Xn; R22 Xi; R41 R43	Xn R: 22-41-43 S: (2-)24-26-37/39		
606-086-00-1	1-(3,3-διμεθυλοκυκλοεξυλο)πεντ-εν-1-όνη		422-330-8	56973-87-6	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
606-087-00-7	6-αιθυλο-5-φθορο-4(3H)-πυριμιδόνη		422-460-5	137234-87-8	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)60-61		
606-088-00-2	2,4,4,7-τετραμεθυλο-6-οκτεν-3-όνη		422-520-0	74338-72-0	Xi; R38 N; R51-53	Xi; N R: 38-51/53 S: (2-)37-61		
606-089-00-8	Μείγμα από: 1,4-διαμινο-2-χλωρο-3-φαινοξυανθρακινόνη, 1,4-διαμινο-2,3-δις-φαινοξυανθρακινόνη		423-220-2	12223-77-7	R53	R: 53 S: 61		
606-091-00-9	6-χλωρο-5-(2-χλωροαιθυλ)-1,3-διυδροϊνδολ-2-όνη		421-320-0	118289-55-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
606-092-00-4	Μείγμα από: (E)-οξακυκλοδεκαεξ-12-εν-2-όνη; (E)-οξακυκλοδεκαεξ-13-εν-2-όνη; α) (Z)-οξακυκλοδεκαεξ-(12)-εν-2-όνη και β) (Z)-οξακυκλοδεκαεξ-(13)-εν-2-όνη		422-320-3	111879-80-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-379-00-7	Μίγμα των: στεατικός 2-[N-(2-υδροξυαιθυλο)στεαραμιδο]αιθυλεστέρας, [δις[2-(στεαρυλοξυ)αιθυλο]αμινο]μεθυλοσουλφονικό νάτριο, [δις(2-		401-230-8	55349-70-7	R52-53	R: 52/53 S: 61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Οριa συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	υδροξυαιθυλο)αμινο]μεθυλοσουλφονικό νάτριο, N,N-δις(2-υδροξυαιθυλο)στεαραμίδιο							
607-380-00-2	Μίγμα: 1,2-δις(εξυλοξυκαρβονυλ)αιθανοσουλφονικού αμμωνίου, 1-εξυλοξυκαρβονυλ-2-οκτυλοξυκαρβονυλαιθανοσουλφονικού αμμωνίου; 2-εξυλοξυκαρβονυλ-1-οκτυλοξυκαρβονυλαιθανοσουλφονικού αμμωνίου,		407-320-3	-	Xi; R38-41 R 52-53	Xi R: 38-41-52/53 S: (2-)26-37/39-61		
607-381-00-8	ανάμεικτοι τριεστέρες της 2,2-δις(υδροξυμεθυλο)βουτανόλης με C7-αλκανικά οξέα και 2-αιθυλοεξανοϊκό οξύ		413-710-4	-	R 53	R: 53 S: 61		
607-382-00-3	2-((4-αμινο-2-νιτροφαινυλ)αμινο)-βενζοϊκό οξύ		411-260-3	117907-43-4	Xi; R41 R 43 R 52-53	Xi R: 41-43-52/53 S: (2-)24-26-37/39-61		
607-383-00-9	Μίγμα των: 2,2,6,6-τετραμεθυλοπιπεριδιν-4-υλ δεκαεξανοϊκού εστέρα 2,2,6,6-τετραμεθυλοπιπεριδιν-4-υλ- δεκαοκτανοϊκού εστέρα		415-430-8	86403-32-9	Xi; R41 R 43 N; R50-53	Xi; N R: 41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61		
607-384-00-4	Μείγμα από: εστέρες διακλαδισμένων αλκοολών C14-C15 με 3,5-δι-t-βουτυλο-4-υδροξυφαινυλο προπιονικό οξύ, διακλαδισμένο C15 και γραμμικό αλκύλο 3,5-δις(1,1-διμεθυλαιθυλο)-4-υδροξυβενζολοπροπανοϊκό, διακλαδισμένο C13 και γραμμικό αλκύλο 3,5-δις(1,1-διμεθυλαιθυλο)-4-υδροξυβενζολοπροπανοϊκό		413-750-2	171090-93-0	R 53	R: 53 S: 61		
607-385-00-X	συμπολυμερές της βινυλαλκοοόλης και οξικού βινυλεστέρα μερικώς ακετυλιωμένο με μεθυλοσουλφονικό 4-(2-(4-		414-590-6	125229-74-5	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	φορμυλοφαινυλο)αιθενυλο)-1-μεθυλοπυριδίνιο							
607-386-00-5	Μίγμα των: δεκατετρανοϊκού οξέος (42.5-47.5%), πολυ(1-7)λακτικών εστέρων του δεκατετραανοϊκού οξέος (52.5-57.5%)		412-580-6	174591-51-6	Xi; R38-41 R 43 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61		
607-387-00-0	Μίγμα των: δωδεκανοϊκό οξύ (35-40%), πολυ(1-7)λακτικών εστέρων του δωδεκανοϊκού οξέος (60-65%)		412-590-0	58856-63-6	Xi; R38-41 R 43 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61		
607-388-00-6	4-αιθυλαμινο-3-νιτροβενζοϊκό οξύ		412-090-2	2788-74-1	Xn; R22 R 43 R 52-53	Xn R: 22-43-52/53 S: (2-)22-24-37-61		
607-389-00-1	N,N-δις(καρβοξυμεθυλο)-3-αμινο-2-υδροξυπροπιονικό τρινάτριο		414-130-4	119710-96-2	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)22		
607-390-00-7	1,2,3,4-τετραϋδρο-6-νιτροκινοξαλίνη		414-270-6	41959-35-7	Xn; R22 N; R51-53	Xn; N R: 22-51/53 S: (2-)22-61		
607-391-00-2	διμεθυλοκυκλοπροπανο-1,1-δικαρβοξυλικός εστέρας		414-240-2	6914-71-2	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-392-00-8	2-φαινοξυαιθύλ 4-((5-κυανο-1,6-διυδρο-2-υδροξυ-1,4-διμεθυλ-6-οξο-3-πυριδινυλ)αζο)βενζοϊκός εστέρας		414-260-1	88938-37-8	R 53	R: 53 S: 61		
607-393-00-3	3-(cis-1-προπενυλ)-7-αμινο-8-οξο-5-θεια-1-αζαδικυκλο[4.2.0]οκτ-2-ενο-2-καρβοξυλικό οξύ		415-750-8	106447-44-3	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-394-00-9	5-μεθυλοπυραζινο-2-καρβοξυλικό οξύ		413-260-9	5521-55-1	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
607-395-00-4	Μίγμα των: 1-δεκατριυλο-4-αλλυλο-(2 ή 3)-σουλφοβουτανοδιοϊκό νάτριο, 1-δωδεκυλο-4-αλλυλο-(2 ή 3)-σουλφοβουτανοδιοϊκό νάτριο		410-230-7	-	C; R34 R 43 N; R51-53	C; N R: 34-43-51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61		
607-396-00-X	δις (1,2,2,6,6-πενταμεθυλο-4-πιπεριδινυλ) 2-(4-μεθοξυβενζυλιδενο)μηλονικός εστέρας		414-840-4	147783-69-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 22-60-61		
607-397-00-5	Μίγμα από: σαλικυλικά άλατα του Ca (διακλαδισμένα C10-C14 και C18-30 αλκυλιωμένα);		415-930-6	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)36/37		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**EC No**	**CAS No**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Ορια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
	φαινολικά άλατα του Ca (διακλαδισμένα C12-C14 και C18-30 αλκυλιωμένα); θειωμένα φαινολικά άλατα του Ca (διακλαδισμένα C10-14 και C18-30 αλκυλιωμένα)							
607-398-00-0	N-(5-χλωρο-3-(4-(διαιθυλαμινο)-2-μεθυλοφαινυλιμινο)-4-μεθυλ-6-οξο-1,4-κυκλοεξαδιενυλο)καρβαμιδικός αιθυλεστέρας		414-820-5	125630-94-6	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-399-00-6	2,2-διμεθυλο 3-μεθυλο-3-βουτενυλο προπανοϊκός εστέρας		415-610-6	104468-21-5	Xi; R38 R52-53	Xi R: 38-52/53 S: (2-)37-61		
607-400-00-X	Μεθυλο 3-[[(διβουτυλαμινο)θειοξομεθυλο]θειο]προπανοϊκός εστέρας		414-400-1	32750-89-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-401-00-5	Αιθυλ 3-υδροξυ-5-οξο-3-κυκλοεξανο-1-καρβοξυλικός εστέρας		414-450-4	88805-65-6	Xi; R38-41 R 43	Xi R: 38-41-43 S: (2-)24-26-37/39		
607-402-00-0	N-(φαινοξυκαρβονυλο)-L-βαλινικός μεθυλεστέρας		414-500-5	153441-77-1	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-403-00-6	Μίγμα: ηλεκτρικού δις(1S, 2S, 4S)-(1-βενζυλο-4-tert-βουτοξυκαρβοξαμιδο-2-υδροξυ-5-φαινυλο)πεντυλαμμωνίου, ισοπροπυλικής αλκοόλης		414-810-0	-	Xn; R48/22 Xi; R41 N; R50-53	Xn; N R: 41-48/22-50/53 S: (2-)22-26-36/39-60-61		
607-404-00-1	Μίγμα: ((Z)-3,7-διμεθυλ-2,6-οκταδιενυλ)οξυκαρβονυλοπροπανοϊκού οξέος, δι((E)-3,7-διμεθυλ-2,6-οκταδιενυλ) βουτανοδιϊκού εστέρα, δι((Z)-3,7-διμεθυλ-2,6-οκταδιενυλ) βουτανοδιϊκού εστέρα, (Z)-3,7-διμεθυλ-2,6-οκταδιενυλ βουτανοδιϊκού εστέρα, ((E)-3,7-διμεθυλ-2,6-οκταδιενυλ)οξυκαρβονυλοπροπανοϊκού οξέος		415-190-4	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
607-405-00-7	2-δεκαεξυλ p-υδροξυβενζοϊκός εστέρας		415-380-7	148348-12-3	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-406-00-2	2,5-διχλωροβενζοϊκό κάλιο		415-700-5	-	Xn; R22	Xn		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
					Xi; R41	R: 22-41 S: (2-)26-39		
607-407-00-8	2-καρβοξυ-3-(2-θειενυλο)προπιονικός αιθυλεστέρας		415-680-8	143468-96-6	Xi; R38-41 R 43	Xi R: 38-41-43 S: (2-)24-26-37/39		
607-408-00-3	N-(4-φθοροφαινυλο)γλυκινικό κάλιο		415-710-1	-	Xn; R48/22 Xi; R41 R 43 R 52-53	Xn R: 41-43-48/22-52/53 S: (2-)22-26-36/37/39-61		
607-409-00-9	Μείγμα από: (3R)-[1S-(1α, 2α, 6β-((2S)-2-μεθυλ-1-οξο-βουτοξυ)-8aγ)-εξαϋδρο-2,6-διμεθυλο-1-ναφθαλινο]-3,5-διυδροξυεπτανοϊκό οξύ; αδρανής βιομάζα από Aspergillus terreus		415-840-7	-	R 43 R 52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)36/37-61		
607-410-00-4	μονο[2-(διμεθυλαμινο)αιθυλ] μονόξινος 2-(δεκαεξ-2-ενυλο)βουτανοδικός εστέρας και /η μονο [2-(διμεθυλαμινο)αιθυλ] μονόξινος 3-(δεκαεξ-2-ενυλο)βουτανοδϊκός εστέρας		415-880-5	-	Xi; R38-41 R 43 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61		
607-411-00-X	4-μεθυλοβενζολοσουλφονικός S-οξιρανομεθανολεστέρας		417-210-7	70987-78-9	Carc.Cat.2; R45 Muta.Cat.3; R68 Xi; R41 R43 N; R51-53	T; N R: 45-41-43-51/53 S: 53-45-61		
607-412-00-5	2-(1-κυανοκυκλοεξυλ) οξικός αιθυλεστέρας		415-970-4	133481-10-4	Xn; R22-48/22 R 52-53	Xn R: 22-48/22-52/53 S: (2-)36/37-61		
607-413-00-0	trans-4-φαινυλο-L-προλίνη		416-020-1	96314-26-0	Repr.Cat.3; R62 R 43	Xn R: 43-62 S: (2-)22-36/37		
607-414-00-6	τρις(2-αιθυλεξυλ)-4,4',4''-(1,3,5-τριαζινο-2,4,6-τριυλτριιμινο)τριβενζοϊκός εστέρας		402-070-1	88122-99-0	R53	R: 53 S: 61		
607-415-00-1	πολυ-(μεθυλο μεθακρυλικό)-συν-(βουτύλομεθακρυλικό)-συν-(4-ακρυλοξυβουτυλ-ισοπροπενυλ-α,α-		419-590-1	-	F; R11 R 43	F; Xi R: 11-43 S: (2-)24-37-43		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	διμεθυλοβενζύλο καρβαμιδικό)-συν-(μηλεϊνικός ανυδρίτης)							
607-416-00-7	4-(2-καρβοξυμεθυλοθειο) αιθοξυ-1-υδροξυ-5-ισοβουτυλοξυκαρβονυλαμινο-N-(3-δωδεκυλοξυπροπυλ)-2-ναφθαμίδιο		420-730-7	-	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-418-00-8	2-αιθυλεξυλ 4-αμινοβενζοϊκός εστέρας		420-170-3	26218-04-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-419-00-3	(3΄-καρβοξυμεθυλο-5-(2-(3-αιθυλο-3H-βενζοθειαζολ-2-υλιδενο)-1-μεθυλ-αιθυλιδενο)-4,4΄-διοξο-2΄-θειοξο-(2,5΄)διθειαζολιδινυλιδεν-3-υλ)-οξικό οξύ		422-240-9	166596-68-5	Xi; R41 R 43	Xi R: 41-43 S: (2-)26-36/37/39		
607-420-00-9	2,2-δις(υδροξυμεθυλο)βουτανοϊκό οξύ		424-090-1	10097-02-6	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
607-421-00-4	Cypermethrin cis/trans +/- 40/60 (RS)-α-κυανο-3-φαινοξυβενζύλο (1RS,3RS;1RS,3SR)-3-(2,2-διχλωροβινυλο)-2,2-διμεθυλοκυκλοπροπανοκαρβοξυλικός εστέρας		257-842-9	52315-07-8	Xn; R20/22 Xi; R37 N; R50-53	Xn; N R: 20/22-37-50/53 S: (2-)24-36/37/39-60-61		
607-422-00-X	α-cypermethrin		257-842-9	67375-30-8	T; R25 Xn; R48/22 Xi; R37 N; R50-53	T; N R: 25-37-48/22-50/53 S: (2-)36/37/39-45-60-61		
607-423-00-5	εστέρες του mecoprop και του mecoprop-P		-	-	Xn; R22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)13-36/37-60-61		
607-424-00-0	trifloxystrobin (ISO) τριφλοξυστροβίνη (ISO) μεθυλεστέρας του (*E,E*)-α-μεθοξυιμινο-{2[[[[1-[3-(τριφθορομεθυλο)φαινυλ]αιθυλιδενο]αμινο]οξυ]μεθυλο]βενζοοξεικού οξέος		-	141517-21-7	R43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-46-60-61		
607-425-00-6	metalaxyl (ISO) N-(2,6-διμεθυλοφαινυλο)-N-(μεθοξυακετυλ)-DL-αλανινικό μεθύλιο		260-979-7	57837-19-1	Xn; R22 R43 R52-53	Xn R: 22-43-52/53 S: (2-)13-24-37-46-61		
607-426-00-1	διακλαδισμένος και γραμμικός		284-032-2 [1]	84777-06-0 [1]	Repr. Cat. 2; R60-61 N; R50	T; N R: 60-61-50		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	διπεντυλεστέρας του 1,2-βενζολοδικαρβοξυλικού οξέος, [1] ισοπεντυλοφθαλικός n-πεντυλεστέρας [2] φθαλικός δι-n-πεντυλεστέρας [3] φθαλικός διισοπεντυλεστέρας [4]		- [2] 205-017-9 [3] 210-088-4 [4]	- [2] 131-18-0 [3] 605-50-5 [4]		S: 53-45-61		
607-427-00-7	επτανοϊκή βρωμοξυνίλη (ISO) επτανοϊκό 2,6-διβρωμο-4-κυανοφαινύλιο		260-300-4	56634-95-8	Repr.Cat3; R63 Xn; R20/22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 20/22-43-63-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61		
607-430-00-3	BBP φθαλικό βενζύλιο βουτύλιο		201-622-7	85-68-7	Repr. Cat.2; R61 Repr. Cat.3; R62 N; R50-53	T; N R: 61-62-50/53 S: 53-45-60-61		
607-431-00-9	prallethrin πραλλεθρίνη ETOC 2,2-διμεθυλο-3-(2-μεθυλοπροπ-1-ενυλο)κυκλοπροπανοκαρβοξυλικό 2-μεθυλ-4-οξο-3-(προπ-2-υνυλο)κυκλοπεντ-2-εν-1-ύλιο		245-387-9	23031-36-9	T; R23 Xn; R22 N; R50-53	T; N R: 22-23-50/53 S: (1/2-)45-60-61		
607-432-00-4	*S*-metolachlor μείγμα (*S*)-2-χλωρο-*N*-(2-αιθυλ-6-μεθυλο-φαινυλο)-*N*-(2-μεθοξυ-1-μεθυλ-αιθυλ)-ακεταμίδιου (80-100%) [1] *S*-metolachlor (*R*)-2-χλωρο-*N*-(2-αιθυλο-6-μεθυλο-φαινυλο)-*N*-(2-μεθοξυ-1-μεθυλ-αιθυλ)-ακεταμίδιου (0-20%) [2]		- [1] - [2]	87392-12-9 [1] 178961-20-1 [2]	R43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-60-61		
607-433-00-X	cypermethrin *cis/trans* +/- 80/20 *cis/trans* +/- 80/20 κυπερμεθρίνη (1*RS*, 3*RS*, 1*RS*, 3*RS*) -3-(2,2-διχλωροβινυλο)-2,2-διμεθυλοκυκλοπροπανοκαρβοξυλικό (RS)-α-κυανο-3-φαινοξυβενζύλιο		257-842-9	52315-07-8	Xn; R22 Xi; R37/38 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-37/38-43-50/53 S: (2-)36/37/39-60-61		
607-434-00-5	mecoprop-P [1] και τα άλατά του (*R*)-2-(4-χλωρο-2-μεθυλοφαινοξυ)προπιονικό οξύ		240-539-0	16484-77-8	Xn; R22 Xi; R41 N; R51-53	Xn; N R: 22-41-51/53 S: (2-)13-26-37/39-46-61		
607-435-00-0	2,2-διυδροξυοξικός 2S-ισοπροπυλο-5R-μεθυλο-1R-κυκλοεξυλεστέρας		416-810-6	111969-64-3	Xn; R48/22 Xi; R41 N; R51-53	Xn; N R: 41-48/22-51/53 S: (2-)22-26-36/39-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
607-436-00-6	νεοδεκανοϊκό 2-υδροξυ-3(2-αιθυλο-4-μεθυλιμιδαζοϋλο)προπύλιο		417-350-9	-	Xi; R38-41 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-50/53 S: (2-)26-28-37/39-60-61		
607-437-00-1	3-(4-αμινοφαινυλο)-2-κυανο-2-προπενοϊκό οξύ		417-480-6	-	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-438-00-7	2-[(αμινοσουλφονυλο)μεθυλο]βενζοϊκό μεθύλιο		419-010-5	-	Xn; R22 Xi; R36	Xn R: 22-36 S: (2-)22-26		
607-439-00-2	τετραϋδρο-2-φουρανοκαρβοξυλικό μεθύλιο		420-670-1	37443-42-8	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
607-440-00-8	2-αμινοσουλφονυλο-6-(τριφθορομεθυλο)πυριδινο-3-καρβοξυλικό μεθύλιο		421-220-7	144740-59-0	R43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)22-24-37-61		
607-441-00-3	3-[3-(2-δωδεκυλοξυ-5-μεθυλοφαινυλοκαρβαμοϋλ)-4-υδροξυ-1-ναφθυλοθειο]προπιονικό οξύ		421-490-6	167684-63-1	R53	R: 53 S: 57-61		
607-442-00-9	[υδροξυ-(4-φαινυλοβουτυλο)φωσφινυλ]οξικός βενζυλεστέρας		416-050-5	87460-09-1	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-36/39		
607-443-00-4	φωσφορικός δις(2,4-δι-tert-βουτυλο-6-μεθυλοφαινυλο)αιθυλεστέρας		416-140-4	145650-60-8	R 53	R: 53 S: 61		
607-444-00-X	Μίγμα: διβενζοϊκού cis-1,4-διμεθυλοκυκλοεξυλεστέρα, διβενζοϊκού trans-1,4-διμεθυλοκυκλοεξυλεστέρα		416-230-3	35541-81-2	R 53	R: 53 S: 61		
607-445-00-5	Τρις(4-μεθυλοβενζολοσουλφονικός) σίδηρος (II)		420-960-8	77214-82-5	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)24-26-39		
607-446-00-0	2-[4-(2-χλωρο-4-νιτρο φαινυλαζω)-3-(1-οξο προπυλ)αμινο]φαινυλαμινοπροπιονικός μεθυλεστέρας		416-240-8	155522-12-6	R 43 R 53	Xi R: 43-53 S: (2-)22-24-37-61		
607-447-00-6	4-[4-(4-υδροξυφαινυλαζω)φαινυλαμινο]-3-νιτροβενζολο σουλφονικό νάτριο		416-370-5	156738-27-1	R 43 R52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)22-24-37-61		
607-448-00-1	2,3,5,6-τετραφθοροβενζοϊκό οξύ		416-800-1	652-18-6	Xi; R38-41	Xi R: 38-41 S: (2-)22-26-37/39		
607-449-00-7	Μείγμα από: 4,4΄,4΄΄-[(2,4,6-τριοξο-1,3,5(2H,4H,6H)-		417-080-1	-	E; R2 R43	E; Xi; N R: 2-43-50/53		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	τριαζινο-1,3,5-τριυλο)τρις[μεθυλενο(3,5,5-τριμεθυλο-3,1-κυκλοεξανοδιυλο)ιμινοκαρβονυλοξυ-2,1-αιθανοδιυλ(αιθυλ)αμινο]]τρις-βενζολοδιαζώνιοτρι[δις(2-μεθυλοπροπυλο)-ναφθαλινοσουλφονικό; τετρα[δις(2-μεθυλοπροπυλο)ναφθαλινοσουλφονικό] 4,4΄,4΄΄,4΄΄΄-[[5,5΄-[καρβονυλοδις[ιμινο(1,5,5-τριμεθυλο-3,1-κυκλοεξανοδιυλ)μεθυλενο]]-2,4,6-τριοξο-1,3,5(2H,4H,6H)-τριαζινο-1,1΄,3,3΄-τετραϋλο]τετρακις[μεθυλενο(3,5,5-τριμεθυλο-3,1-κυκλοεξανοδιυλ)ιμινο-καρβονυλοξυ-2,1-αιθανοδιυλ(αιθυλ)-αμινο]]τετρακις-βενζολοδιαζώνιο				N; R50-53	S: (2-)24-35-37-60-61		
607-450-00-2	ισοπροποξυιμινοοξικό 2-μερκαπτοβενζοθειαζολυλ(Z)-(2-αμινοθειαζολ-4-υλο)-2-(tert-βουτοξυκαρβονύλιο)		419-040-9	89604-92-2	R 53	R: 53 S: 61		
607-451-00-8	4-[4-αμινο-5-υδροξυ-3-(4-(2-σουλφοξυαιθυλοσουλφονυλο)φαινυλαζω)-2,7-δισουλφοναφθ-6-υλαζω]-6-[3-(4-αμινο-5-υδροξυ-3-(4-(2-σουλφοξυαιθυλοσουλφονυλο)φαινυλαζω)-2,7-δισουλφοναφθ-6-υλαζω]φαινυλοκαρβονυλαμινο]βενζολοσουλφονικό οξύ, άλας νατρίου		417-640-5	161935-19-9	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		
607-453-00-9	δις(2,2-διμεθυλοκτανοϊκό) 4-βενζυλο-2,6-διυδροξυ-4-αζαεπτυλένιο		418-100-1	172964-15-7	R 43 R 53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
607-454-00-4	Μίγμα των: trans-2-(1-μεθυλοαιθυλο)-1,3-διοξανο-5-καρβοξυλικό οξύ, cis-2-(1-μεθυλοαιθυλο)-1,3-διοξανο-5-καρβοξυλικό οξύ		418-170-3	-	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)25-26-39-61		
607-455-00-X	Το με νάτριο-λίθιο άλας του 1-		419-520-8	172890-93-6	R 43	Xi		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Oρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	αμινο-4-(3-[4-χλωρο-6-(2,5-δι-σουλφοφαινυλαμινο)- 1,3,5-τριαζινο-2-υλαμινο]-2,2-διμεθυλο-προπυλαμινο)-ανθρακινονο-2-σουλφονικού οξέος					R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-456-00-5	δεκαεξυλεστέρας του 3-αμινο-4-χλωροβενζοϊκού οξέος		419-700-6	143269-74-3	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-457-00-0	δισόξινο 1,1΄΄-διυδροξυ-8,8΄΄-[p-φαινυλοδις(ιμινο-{6-[4-(2-αμινοαιθυλο)πιπεραζιν-1-υλο]}-1,3,5-τριαζινο-4,2-διυλ-ιμινο)]δις(2,2΄-αζωναφθαλινο-1΄,3,6-τρισουλφονικό) τετρανάτριο		420-350-1	172277-97-3	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		
607-458-00-6	Μείγμα από: 2-αιθυλο-[2,6-διβρωμο-4-[1-[3,5-διβρωμο-4-(2-υδροξυαιθοξυ)φαινυλο]-1-μεθυλαιθυλο]φαινοξυπροπενοϊκό εστέρα, διπροπενοϊκό 2,2΄-διαιθυλο-[4,4΄-δις(2,6-διβρωμοφαινοξυ)-1-μεθυλαιθυλιδενύλιο], 2,2΄-[(1-μεθυλαιθυλιδενο)δις[[2,6-διβρωμο-4,1-φαινυλεν)οξυ]αιθανόλη]]		420-850-1	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-459-00-1	4-{2-[5-κυανο-1,2,3,6-τετραϋδρο-1-(2-ισοπροποξυαιθοξυ-καρβονυλομεθυλο)-4-μεθυλο-2,6-διοξο-3-πυριδυλιδεν]υδραζινο}βενζοϊκό ισοπεντύλιο		418-930-4	-	R 53	R: 53 S: 61		
607-460-00-7	9-δεκαοκτανοϊκό 3-δεκατριακυλοξυ-προπυλαμμώνιο		418-990-1	-	Xn; R48/22 Xi; R36/38 N; R50-53	Xn; N R: 36/38-48/22-50/53 S: (2-)23-26-37/39-60-61		
607-461-00-2	Μείγμα από: 2-{4-{3-μεθυλο-4-[6-σουλφονικο-4-(2-σουλφονικο-φαινυλαζω)-ναφθαλιν-1-υλαζω]-φαινυλαμινο}-6-[3-(2-θειικο-αιθανοσουλφονυλο)-φαινυλαμινο]-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο}-βενζολο-1,4-δισουλφονικό πεντανάτριο, 2-{4-{3-μεθυλο-4-[7-		421-160-1	-	R 52-53	R: 52/53 S: 61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	σουλφονικο-4-(2-σουλφονικο-φαινυλαζω)-ναφθαλινο-1-υλαζω]-φαινυλαμινο}-6-[3-(2-θειικο-αιθανοσουλφονυλο)-φαινυλαμινο]-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο}-βενζολο-1,4-δισουλφονικό πεντανάτριο							
607-462-00-8	Μείγμα από: οξικό 1-εξύλιο, οξικό 2-μεθυλο-1-πεντύλιο, οξικό 3-μεθυλο-1-πεντύλιο, οξικό 4-μεθυλο-1-πεντύλιο, άλλα αναμεμειγμένα γραμμικά και διακλαδισμένα οξικά C6-αλκύλια		421-230-1	88230-35-7	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-463-00-3	3-(φαινοθειαζιν-10-υλο)προπιονικό οξύ		421-260-5	362-03-8	N; R51-53	N R: 51/53 S: 24/25-61		
607-464-00-9	Μείγμα από: 7-χλωρο-1-αιθυλο-6-φθορο-1,4-διϋδρο-4-οξο-κινολινο-3-καρβοξυλικό οξύ, 5-χλωρο-1-αιθυλο-6-φθορο-1,4-διϋδρο-4-οξο-κινολινο-3-καρβοξυλικό οξύ		421-280-4	68077-26-9	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-465-00-4	7-{4-[4-(2-κυανοαμινο-4-υδροξυ-6-οξειδοπυριμιδιν-5-υλαζω)βενζαμιδο]-2-αιθοξυ-φαινυλαζω}ναφθαλινο-1,3-δισουλφονικό τρις(2-υδροξυαιθυλ)αμμώνιο		421-440-3	-	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-466-00-X	Μείγμα από: 1-(1-[2-χλωρο-5-(δεκαεξυλοξυκαρβονυλο)φαινυλο καρβαμοϋλο]-3,3-διμεθυλ-2-οξοβουτυλο)-1H-2,3,3α,7α-τετραϋδροβενζοτριαζολο-5-καρβοξυλικό φαινύλιο, 2-(1-(2-χλωρο-5-(δεκαεξυλοξυκαρβονυλο)φαινυλο καρβαμοϋλο)-3,3-διμεθυλ-2-οξοβουτυλο)-1H-2,3,3α,7α-τετραϋδροβενζοτριαζολο-5-καρβοξυλικό φαινύλιο, 3-(1-(2-χλωρο-5-(δεκαεξυλοξυκαρβονυλο)φαινυλο καρβαμοϋλο)-3,3-διμεθυλ-2-οξοβουτυλο)-1H-2,3,3α,7α-τετραϋδροβενζοτριαζολο-5-καρβοξυλικό φαινύλιο		421-480-1	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 37/39-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
607-467-00-5	1,3-δικασσιτεροξυδικαπρυλικός 1,1,3,3-τετραβουτυλεστέρας		419-430-9	56533-00-7	Xn; R21/22-48/22 C; R34 N; R50-53	C; N R: 21/22-34-48/22-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61		
607-468-00-0	Μίγμα μονονατρίου άλατος του 4-((4-(5-σουλφονικο-2-μεθοξυφαινυλαμινο)-6-χλωρο-1,3,5-τριαζιν-2-υλ)αμινο)-2-((1,4-διμεθυλ-6-οξειδο-2-οξο-5-σουλφονικομεθυλο-1,2-διυδροπυριδιν-3-υλ)αζω)βενζολοσουλφονικού οξέος, δινατρίου άλατος του 4-((4-(5-σουλφονικο-2-μεθοξυφαινυλαμινο)-6-χλωρο-1,3,5-τριαζιν-2-υλ)αμινο)-2-((1,4-διμεθυλ-6-οξειδο-2-οξο-5-σουλφονικομεθυλο-1,2-διυδροπυριδιν-3-υλ)αζω)βενζολοσουλφονικού οξέος, τρινατρίου άλατος του 4-((4-(5-σουλφονικο-2-μεθοξυφαινυλαμινο)-6-χλωρο-1,3,5-τριαζιν-2-υλ)αμινο)-2-((1,4-διμεθυλ-6-οξειδο-2-οξο-5-σουλφονικομεθυλ-1,2-διυδροπυριδιν-3-υλ)αζω)βενζολοσουλφονικού οξέος, τετρανατρίου άλατος του 4-((4-(5-σουλφονικο-2-μεθοξυφαινυλαμινο)-6-χλωρο-1,3,5-τριαζιν-2-υλ)αμινο)-2-((1,4-διμεθυλ-6-οξειδο-2-οξο-5-σουλφονικομεθυλο-1,2-διυδροπυριδιν-3-υλ)αζω)βενζολοσουλφονικού οξέος		419-450-8	-	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-469-00-6	7-((4,6-δις(3-διαιθυλαμινοπροπυλαμινο)-1,3,5-τριαζιν-2-υλ)αμινο)-4-υδροξυ-3-(4-(4-σουλφονικοφαινυλαζω)φαινυλαζω)-2-ναφθαλινοσουλφονικό δινάτριο		419-460-2	120029-06-3	R52-53	R: 52/53 S: 61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
607-470-00-1	6,13-διχλωρο-3,10-δις-{2-[4-[3-(2-υδροξυσουλφονυλοξυαιθανοσουλφονυλο)φαινυλαμινο]-6-(2,5-δισουλφονικοφαινυλαμινο)-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο]αιθυλαμινο}βενζο[5,6][1,4]οξαζινο[2,3-b]φαινοξαζινο-4,11-δισουλφονικό καλιονάτριο		414-100-0	-	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)39-22-26-61		
607-472-00-2	ημιένυδρος εναμμώνιος τριμεθυλενοδιαμινοτετραοξικός σίδηρος(III)		400-660-3	111687-36-6	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-474-00-3	(4-(4-(4-διμεθυλαμινοβενζυλιδεν-1-υλο)-3-μεθυλ-5-οξο-2-πυραζολιν-1-υλο)βενζοϊκό οξύ		410-430-4	117573-89-4	R53	R: 53 S: 61		
607-475-00-9	Μίγμα (50/50) των: 7-(4-[4-χλωρο-6-[μεθυλο-(3-σουλφονικοφαινυλ)αμινο]-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο]-2-ουρεϊδοφαινυλαζω)ναφθαλινο-1,3,6-τρισουλφονικό τετρανάτριο, 7-(4-[4-χλωρο-6-[μεθυλο-(4-σουλφονικοφαινυλ)αμινο]-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο]-2-ουρεϊδοφαινυλαζω)ναφθαλινο-1,3,6-τρισουλφονικό τετρανάτριο		412-940-2	148878-18-6	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-476-00-4	Τρινάτριο άλας της N,N-δις(καρβοξυμεθυλ)-β-αλανίνης		414-070-9	129050-62-0	C; R34 R52-53	C R: 34-52/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61		
607-478-00-5	όξινο φθαλικό τετραμεθυλαμμώνιο		416-900-5	79723-02-7	T; R25 Xn; R48/22 N; R50	T; N R: 25-48/22-50 S: (1/2-)25-36-45-61		
607-479-00-0	4-χλωρο-3-[2-(5,5-διμεθυλο-2,4-διοξο-1,3-οξαζολιδιν-3-υλο)-4,4-διμεθυλ-3-οξοπενταμιδο]βενζοϊκό δεκαεξύλιο		418-550-9	168689-49-4	R53	R: 53 S: 61		
607-480-00-6	δι-C7-11-διακλαδισμένοι και γραμμικοί αλκυλεστέρες του 1,2-βενζολοδικαρβοξυλικού οξέος		271-084-6	68515-42-4	Repr. Cat. 2; R61 Repr. Cat. 3; R62	T R: 61-62 S: 53-45		
607-487-00-4	Μίγμα από: 4-(3-αιθοξυκαρβονυλο-4-(5-(3-αιθοξυκαρβονυλο-5-υδροξυ-1-(4-σουλφονικοφαινυλο)πυραζολ-4-		402-660-9	-	Repr.Cat.2; R61 R52-53	T R: 61-52/53 S: 53-45-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	υλο)πεντα-2,4-διενυλιδενο)-4,5-διυδρο-5-οξοπυραζολ-1-υλο)βενζολοσουλφονικό δινάτριο, 4-(3-αιθοξυκαρβονυλο-4-(5-(3-αιθοξυκαρβονυλο-5-οξειδο-1-(4-σουλφονικοφαινυλο)πυραζολ-4-υλο)πεντα-2,4-διενυλιδενο)-4,5-διυδρο-5-οξοπυραζολ-1-υλο)βενζολοσουλφονικό τρινάτριο							
607-488-00-X	(2-ακετυλαμινο-4-ισοθειοκυανικοφαινοξυ-5-φθορο)οξικός αιθυλεστέρας		414-210-9	147379-38-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-489-00-5	Μίγμα: 2-αιθυλεξυλεστέρα του λινολενικού, λινελαϊκού και ελαϊκού, 2-αιθυλεξυλεστέρα του εποξυελαϊκού 2-αιθυλεξυλεστέρα του διεποξυλινελαϊκού 2-αιθυλεξυλεστέρα τριεποξυλινολενικού		414-890-7	71302-79-9	R43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
607-490-00-0	γλυκινικό N-[2-υδροξυ-3-(C12-16-αλκυλοξυ)προπυλο]-N-μεθύλιο		415-060-7	-	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)24-26-37/39		
607-492-00-1	προπανοϊκός 2-(1-(3΄,3΄-διμεθυλο-1΄-κυκλοεξυλ)αιθοξυ)-2-μεθυλοπροπυλεστέρας		415-490-5	141773-73-1	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-493-00-7	(3aR, 4R, 7aR)-2-μεθυλο-4-(1S, 2R,3-τριακετοξυπροπυλ)-3a,7a-διυδρο-4H-πυρανο[3,4-d]οξαζολο-6-καρβοξυλικός μεθυλεστέρας		415-670-3	78850-37-0	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
607-494-00-2	οκτυλοφωσφονικό δις(2-αιθυλεξύλιο)		417-170-0	52894-02-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-495-00-8	4-σουλφοφαινυλ-6-((1-οξοεννεϋλ)αμινο)εξανοϊκό νάτριο		417-550-6	168151-92-6	R43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
607-496-00-3	φωσφορώδες 2,2'-μεθυλενοδις(4,6-δι- tert-βουτυλο-φαινυλο)-2-αιθυλεξύλιο		418-310-3	126050-54-2	R53	R: 53 S: 61		
607-497-00-9	ισοστεατικό οξείδιο του δημητρίου		419-760-3	-	R53	R: 53 S: 61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**EC No**	**CAS No**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Ορια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
607-498-00-4	2,6-οκταδιενυλοδεκαεξανοϊκό (Ε)-3,7-διμεθύλιο		421-370-3	3681-73-0	Xi; R38 R53	Xi R: 38-53 S: (2-)37-61		
607-499-00-X	1,2-αιθανοδιυλο-δις(2-δεκαεξενυληλεκτρικό) δις(διμεθυλ-(2-υδροξυαιθυλ)αμμώνιο)		421-660-1	-	Xi; R41 R43 N; R51-53	Xi; N R: 41-43-51/53 S: (2-)24-26-37/39-61		
607-500-00-3	2,2-δις[(5-τετραπροπυλεν-2-υδροξυ)φαινυλ]αιθανοϊκό ασβέστιο		421-670-4	-	Xi; R38 N; R50-53	Xi; N R: 38-50/53 S: (2-)37-60-61		
607-501-00-9	Μείγμα από: τριφαινυλοθειοφωσφορικά και τριτοταγή βουτυλιωμένα φαινυλοπαράγωγα		421-820-9	-	R53	R: 53 S: 61		
607-502-00-4	4-δωδεκυλοβενζολοσουλφονικό (Ν-βενζυλο-Ν,Ν,Ν-τριβουτυλ)αμμώνιο		422-200-0	-	C; R34 Xn; R22 N; R51-53	C; N R: 22-34-51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61		
607-503-00-X	2,4,6-τρι-n-προπυλο-2,4,6-τριοξο-1,3,5,2,4,6-τριοξατριφωσφορινάνιο		422-210-5	68957-94-8	C; R34	C R: 34 S: (1/2-)26-36/37/39-45		
607-505-00-0	7-(4-(4-(5-αμινο-4-σουλφονικο-2-(4-((2-(σουλφονικο-αιθοξυ)σουλφονυλο)φαινυλαζω) φαινυλαμινο)-6-χλωρο-1,3,5-τριαζιν-2-υλ)αμινο-2-ουρεϊδοφαινυλαζω)ναφθαλινο-1,3,6-τρισουλφονικό πεντανάτριο		422-930-1	171599-84-1	R52-53	R: 52/53 S: 22-61		
607-506-00-6	Μίγμα: (4-χλωρο-2-((4,5-διυδρο-3-μεθυλ-5-οξο-1-(3-σουλφονικοφαινυλ)-1Η-πυραζολ-4-υλ)αζω)-5-μεθυλο)βενζολοσουλφονικού στροντίου, (4-χλωρο-2-((4,5-διυδρο-3-μεθυλ-5-οξο-1-(3-σουλφονικοφαινυλ)-1Η-πυραζολ-4-υλ)αζω)-5-μεθυλο)βενζολοσουλφονικού δινατρίου		422-970-8	136248-04-9	N; R51-53	N R: 51/53 S: 22-61		
607-507-00-1	2,4-διαμινο-3-[4-(2-σουλφονικοαιθοξυσουλφονυλο)φαινυλαζω]-5-[4-(2-σουλφονικοαιθοξυσουλφονυλο)-2-σουλφονικοφαινυλαζω]-βενζολοσουλφονικό καλιονάτριο		422-980-2	187026-95-5	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
607-508-00-7	3,3΄-[ιμινοδις[σουλφονυλο-4,1-φαινυλενο-(5-υδροξυ-3-μεθυλοπυραζολο-1,4-διυλ)αζω-4,1-φαινυλενοσουλφονυλιμινο-(4-αμινο-6-υδροξυπυριμιδινο-2,5-διυλ)αζω-4,1-φαινυλενοσουλφονυλιμινο(4-αμινο-6-υδροξυπυριμιδινο-2,5-διυλ)αζω]δις(βενζολοσουλφονικό)] δινάτριο		423-110-4	-	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
607-512-00-9	2,4-διαμινο-3,5-δις-[4-(2-σουλφονικοαιθοξυ)σουλφονυλο)φαινυλαζω]βενζολοσουλφονικό τρινάτριο		423-970-0	182926-43-8	R52-53	R: 52/53 S: 22-61		
607-513-00-4	Μίγμα: 4-βενζοϋλαμινο-6-(6-αιθενοσουλφονυλο-1-σουλφονικο-ναφθαλιν-2-υλαζω)-5-υδροξυ-2,3-διυδροναφθαλινο-2,7-δισουλφονικού τρινατρίου, 5-(βενζοϋλαμινο)-4-υδροξυ-3-((1-σουλφο-6-((2-(σουλφοξυ)αιθυλο)σουλφονυλο)-2-ναφθυλ)αζω)ναφθαλινο-2,7-δισουλφονικού νατρίου, 5-(βενζοϋλαμινο)-4-υδροξυ-3-((1-σουλφο-6-((2-(σουλφοξυ)αιθυλο)σουλφονυλο)-2-ναφθυλ)αζω)ναφθαλινο-2,7-δισουλφονικού οξέος		423-200-3	-	Xi; R41 R43 R52-53	Xi R: 41-43-52/53 S: 22-26-36/37/39-61		
607-515-00-5	Μίγμα: δινατρίου άλατος του δισουλφονικού εξυλ-διφαινυλ-αιθέρα, δινατρίου άλατος του δισουλφονικού διεξυλ-διφαινυλ-αιθέρα		429-650-7	147732-60-3	Xi; R36 N; R51-53	Xi; N R: 36-51/53 S: (2-)26-61		
607-516-00-0	N,N΄-δις(τριφθοροακετυλο)-S,S΄-δις-L-ομοκυστεΐνη		429-670-6	105996-54-1	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)24-26-37/39		
607-517-00-6	(S)-α-(ακετυλοθειο)βενζολοπροπανοϊκό οξύ		430-300-0	76932-17-7	Xn; R22 Xi; R41 R43	Xn R: 22-41-43 S: (2-)22-26-36/37/39		
607-526-00-5	cartap 1,3-δις(καρβαμοϋλοθειο)-2-(διμεθυλαμινο)προπάνιο		-	15263-53-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-527-00-0	Μείγμα από: 12-		423-180-6	-	Xn; R48/22	Xn		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	(1"Η,1"Η,2"Η,2"Η-δεκατριαφθοροκτυλο)δωδεκαδιοϊκό 1-(1'Η,1'Η,2'Η,2'Η-δεκατριαφθοροκτύλιο), 12-(1"Η,1"Η,2"Η,2"Η-δεκαεπταφθοροδεκυλο)δωδεκαδιοϊκό 1-(1'Η,1'Η,2'Η,2'Η-δεκατριαφθοροκτύλιο), 12-(1"Η,1"Η,2"Η,2"Η-εικοσιεναφθοροδωδεκυλο)δωδεκαδιοϊκό 1-(1'Η,1'Η,2'Η,2'Η-δεκατριαφθοροκτύλιο), 12-(1"Η,1"Η,2"Η,2"Η-εικοσιπενταφθοροδεκατετρακυλο)δωδεκαδιοϊκό 1-(1'Η,1'Η,2'Η,2'Η-δεκατριαφθοροκτύλιο), 12-(1"Η,1"Η,2"Η,2"Η-δεκαεπταφθοροδεκυλο)δωδεκαδιοϊκό 1-(1'Η,1'Η,2'Η,2'Η-δεκαεπταφθοροδεκύλιο), 12-(1"Η,1"Η,2"Η,2"Η-εικοσιεναφθοροδωδεκυλο)δωδεκαδιοϊκό 1-(1'Η,1'Η,2'Η,2'Η-δεκαεπταφθοροδεκύλιο)					R: 48/22 S: (2-)36		
608-031-00-7	2-βενζυλο-2-μεθυλο-3-βουτενιτρίλιο		407-870-4	97384-48-0	Xn; R22 R 52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)61		
608-033-00-8	N-βουτυλο-3-(2-χλωρο-4-νιτρο-φαινυλυδραζονο)-1-κυανο-2-μεθυλοπροπ-1-ενο-1,3-δικαρβοξιμίδιο		407-970-8	75511-91-0	R 43 R 52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)24-37-61		
608-034-00-3	chlorfenapyr 4-βρωμο-2-(4-χλωροφαινυλ)-1-αιθοξυμεθυλο-5-τριφθορομεθυλοπυρρολο-3-καρβονιτρίλιο		-	122453-73-0	T; R23 Xn; R22 N; R50-53	T; N R: 22-23-50/53 S: (1/2-)13-36/37-45-60-61		
608-035-00-9	(+/-)-α-[(2-ακετυλο-5-μεθυλοφαινυλ)-αμινο]-2,6-διχλωροβενζολο-ακετονιτρίλιο		419-290-9	-	R43 R53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
608-036-00-4	3-(2-{4-[2-(4-κυανοφαινυλο)-βινυλο]-φαινυλο}-βινυλο)-βενζονιτρίλιο		419-060-8	79026-02-1	R 53	R: 53 S: 61		
608-037-00-X	Μίγμα: (E)-2,12-δεκατριδιενονιτριλίου, (E)-3,12-δεκατριδιενονιτριλίου, (Z)-3,12-δεκατριδιενονιτριλίου		422-190-8	124071-40-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
608-038-00-5	2,2,4-τριμεθυλο-4-φαινυλο-βουτανονιτρίλιο		422-580-8	75490-39-0	Xn; R22 N; R51-53	Xn; N R: 22-51/53 S: (2-)61		
608-039-00-0	2-φαινυλοεξανονιτρίλιο		423-460-8	3508-98-3	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)23-60-61		
608-040-00-6	4,4΄-διθειοδις(5-αμινο-1-(2,6-διχλωρο-4-(τριφθορομεθυλο)φαινυλο)-1Η-πυραζολο-3-καρβονιτρίλιο)		423-490-1	130755-46-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
608-041-00-1	4΄-((2-βουτυλ-4-οξο-1,3-διαζασπειρο[4.4]εννε-1-εν-3-υλο)μεθυλο)(1,1΄-διφαινυλο)-2-καρβονιτρίλιο		423-500-4	138401-24-8	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
608-043-00-2	3-(cis-3-εξενυλοξυ)προπανονιτρίλιο		415-220-6	142653-61-0	T; R23 Xn; R22 N; R50-53	T; N R: 22-23-50/53 S: (1/2-)13-36/37-45-60-61		
609-064-00-X	mesotrione· μεσοτριόνη 2-[4-μεθυλοσουλφονυλο)-2-νιτροβενζοϋλ]-1,3-κυκλοεξανοδιόνη		-	104206-82-8	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
609-066-00-0	3-αμινο-10-{4-(10-αμινο-6,13-διχλωρο-4,11-δισουλφονικοβενζο[5,6][1,4]οξαζινο[2,3-b]φαινοξαζιν-3-υλαμινο)-6-[μεθυλο(2-σουλφονικο-αιθυλ)αμινο]- 1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο}-6,13-διχλωροβενζο[5,6][1,4]οξαζινο[2,3-b]φαινοξαζινο-4,11-δισουλφονικό λιθιονάτριο		418-870-9	154212-58-5	Xn; R20/21/22-68/20/21/22	Xn R: 20/21/22-68/20/21/22 S: (2-)36/37		
609-067-00-6	άλας καλίου νατρίου της 4-(3-αμινοπροπυλαμινο)-2,6-δις[3-(4-μεθοξυ-2-σουλφοφαινυλαζω)-4-υδροξυ-2-σουλφο-7-ναφθυλαμινο]-[1,3,5]-τριαζίνης		416-280-6	156769-97-0	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
609-068-00-1	musk xylene 5-τριτ.-βουτυλο-2,4,6-τρινιτρο- m-ξυλόλιο		201-329-4	81-15-2	Carc. Cat. 3; R40 E; R2 N; R50-53	E; Xn; N R: 2-40-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61		
609-070-00-2	1,4-διχλωρο-2-(1,1,2,3,3,3-εξαφθοροπροποξυ)-5-νιτροβενζόλιο		415-580-4	130841-23-5	Xn; R22 R 43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)36/37/39-60-61		
609-071-00-8	Μείγμα από: 2-μεθυλοσουλφανυλο-4,6-δις-(2-		423-520-3	156137-33-6	R43	Xi R: 43		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	υδροξυ-4-μεθοξυ-φαινυλο)-1,3,5-τριαζίνη, 2-(4,6-δις-μεθυλοσουλφανυλο-1,3,5-τριαζιν-2-υλο)-5-μεθοξυ-φαινόλη					S: (2-)22-24-37		
611-099-00-0	(μεθυλενοδις(4,1-φαινυλεναζω(1-(3-(διμεθυλαμινο)προπυλο)-1,2-διυδρο-6-υδροξυ-4-μεθυλο-2-οξοπυριδινο-5,3-διυλο)))-1,1΄-διπυριδίνιο διχλωριούχο διϋδροχλωρίδιο		401-500-5	-	Carc.Cat.2; R45 N; R51-53	T; N R: 45-51/53 S: 53-45-61		
611-100-00-4	3,3΄-(3(ή)-μεθυλο-1,2-φαινυλενοδις(ιμινο(6-χλωρο)-1,3,5-τριαζινο-4,2-διυλιμινο(2-ακεταμιδο-5-μεθοξυ)-4,1-φαινυλεναζω)διναφθαλινο-1,5-δισουλφονικό καλιονάτριο		403-810-6	140876-13-7	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
611-101-00-X	2΄-(4-χλωρο-3-κυανο-5-φορμυλο-2-θειενυλ)αζω-5΄-διαιθυλαμινοακετανιλίδιο		405-200-5	104366-25-8	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-103-00-0	Τρινάτριο (1-(3-καρβοξυλικο-2-οξειδο-5-σουλφονικοφαινυλαζω)-5-υδροξυ-7-σουλφονικοναφθαλιν-2-αμιδο) νικέλιο(ΙΙ)		407-110-1	-	Xi; R41 R 43 N; R51-53	Xi; N R: 41-43-51/53 S: (2-)24-26-37/39-61		
611-104-00-6	Μίγμα από: τρινάτριο (2,4(ή 2,6 ή 4,6)-δις(3,5-δινιτρο-2-οξυλοφαινυλαζω)-5-υδροξυφαινολικο)(2(ή 4 ή 6)-(3,5-δινιτρο-2-οξειδοφαινυλαζω)-5-υδροξυ-4(ή 2 ή 6)-(4-(4-νιτρο-2-σουλφονικοανιλινο)φαινυλαζω)φαινολικο)σιδηρικό(1-) άλας , τρινάτριο δις(2,4(ή 2,6 ή 4,6)-δις(3,5-δινιτρο-2-οξειδοφαινυλαζω-5-υδροξυφαινολικο)σιδηρικό(1-) άλας, τρινάτριο (2,4(ή 2,6 ή 4,6)-δις(3,5-δινιτρο-2-οξειδοφαινυλαζω)-5-υδροξυφαινολικο)(2(ή 4 ή 6)-(3,5-δινιτρο-2-οξειδοφαινυλαζω)-5-υδροξυ-4(ή 2 ή 6)-(4-νιτρο-2-σουλφονικοφαινυλαζο)φαινολικο)σιδηρικό(1-) άλας,		406-870-1	-	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	τρινάτριο (2,4(ή 2,6 ή 4,6)-δις(3,5-δινιτρο-2-οξειδοφαινυλαζω)-5-υδροξυφαινολικω)(2(ή 4 ή 6)-(3,5-δινιτρο-2-οξειδοφαινυλαζω)-5-υδροξυ-4(ή 2 ή 6)-(3-σουλφονικοφαινυλαζω)φαινολικο)σιδηρικό(1-) άλας, 3,3'-(2,4-διυδροξυ-1,3(1,5 ή 3,5)-φαινυλενοδιαζω)διβενζολοσουλφονικό δινάτριο							
611-105-00-1	4-(4-χλωρο-6-(N-αιθυλανιλινο)-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο)-2-(1-(2-χλωροφαινυλ)-5-υδροξυ-3-μεθυλο-1H-πυραζολ-4-υλαζω)βενζολοσουλφονικό νάτριο		407-800-2	136213-75-7	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)22-24-37-61		
611-106-00-7	4,4´-διυδροξυ-3,3´-δις[2-σουλφονικο-4-(4-σουλφονικοφαινυλαζο)φαινυλαζο]7,7´[p-φαινυλενοδις[ιμινο(6-χλωρο-1,3,5-τριαζινο-4,2-διυλ)ιμινο]]διναφθαλενο-2-σουλφονικό εξανάτριο		410-180-6	-	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
611-107-00-2	4-(4-χλωρο-6-(3,6-δισουλφονικο-7-(5,8-δισουλφονικο-ναφθαλιν-2-υλαζω)-8-υδροξυ-ναφθαλιν-1-υλαμινο)-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο)-5-υδροξυ-6-(4-(2-σουλφατοαιθανοσουλφονυλο)-φαινυλαζω)-ναφθαλινο-1,7-δισουλφονικό κάλιο νάτριο		412-490-7	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-108-00-8	5-((4-((4-χλωρο-3-σουλφονικοφαινυλο)αζω)-1-ναφθυλο)αζω)-8-(φαινυλαμινο)-1-ναφθαλινοσουλφονικό δινάτριο		413-600-6	6527-62-4	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
611-109-00-3	Προϊόν αντίδρασης των: θειϊκού χαλκού (II) και τετρανάτριο 2,4-δις[6-(2-μεθοξυ-5-σουλφονικοφαινυλαζω)-5-υδροξυ-7-σουλφονικο-2-ναφθυλαμινο]-6-(2-υδροξυαιθυλαμινο)-1,3,5-τριαζίνης (2:1)		407-710-3	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
611-110-00-9	4,4´-δις(8-αμινο-3,6-δισουλφονικο-1-ναφθολ-2-υλαζο)-3-μεθυλαζοβενζολο		408-210-8	124605-82-9	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-28-37-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	τετρανάτριο/λίθιο							
611-111-00-4	2-[[4-(2-χλωροαιθυλοσουλφονυλο)φαινυλ]-[(2-υδροξυ-5-σουλφο-3-[3-[2-(2-(σουλφοξυ)αιθυλοσουλφονυλ)αιθυλαζο]-4-σουλφο βενζοϊκο(3-) χαλκικό δινάτριο		414-230-8	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-112-00-X	4-υδροξυ-5-[4-[3-(2-θειικο-αιθανοσουλφονυλο)-φαινυλαμινο]-6-μορφολιν-4-υλο-[1,3,5]-τριαζιν-2-υλαμινο]-3-(1-σουλφονικο-ναφθαλιν-2-υλαζω)ναφθαλινο-2,7-δισουλφονικό τετρανάτριο		413-070-6	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-113-00-5	(2-(((5-((2,5-διχλωροφαινυλ)αζω)-2-υδροξυφαινυλο)μεθυλεν)αμινο)βενζοϊκο(2-))(2-((4,5-διυδρο-3-μεθυλο-5-οξο-1-φαινυλο-1H-πυραζολο-4-υλ)αζω)-5-σουλφοβενζοϊκο(3-)) χρωμικό(2-) λίθιο νάτριο		414-280-0	149626-00-6	N; R51-53	N R: 51/53 S: 24/25-61		
611-114-00-0	(4-((5-χλωρο-2-υδροξυφαινυλ)αζω)-2,4-διυδρο-5-μεθυλο-3H-πυραζολ-3-ονικο(2-))(3-((4,5-διυδρο-3-μεθυλο-1-(4-μεθυλοφαινυλο)-5-οξο-1H-πυραζολο-4-υλ)αζω)-4-υδροξυ-5-νιτροβενζολοσουλφονικο(3-)) χρωμικό(2-) λίθιο νάτριο		414-250-7	149564-66-9	Xn; R22 Xi; R41 R 52-53	Xn R: 22-41-52/53 S: (2-)22-26-39-61		
611-115-00-6	δις(4-((4-(διαιθυλαμινο)-2-υδροξυφαινυλ)αζο)-3-υδροξυ-1-ναφθαλινοσουλφονικο(3-))χρωμικό(3-) τριλίθιο		414-290-5	149564-65-8	Xn; R22 R 52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)22-61		
611-116-00-1	Μείγμα από: 5-{4-χλωρο-6-[2-(2,6-διχλωρο-5-κυανοπυριμιδιν-4-υλαμινο)-προπυλαμινο]-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο}-4-υδροξυ-3-(1-σουλφονικοναφθαλιν-2-υλαζω)-ναφθαλινο-2,7-δισουλφονικό τρινάτριο 5-{4-χλωρο-6-[2-(2,6-διχλωρο-5-κυανοπυριμιδιν-4-υλαμινο)-1-μεθυλαιθυλαμινο]-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο}-4-υδροξυ-3-(1-σουλφονικοναφθαλιν-2-υλαζω)-		414-620-8	-	Xi; R41 R 43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	ναφθαλινο-2,7-δισουλφονικό τρινάτριο 5-{4-χλωρο-6-[2-(4,6-διχλωρο-5-κυανοπυριμιδιν-2-υλαμινο)-προπυλαμινο]-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο}-4-υδροξυ-3-(1-σουλφονικοναφθαλιν-2-υλαζω)-ναφθαλινο-2,7-δισουλφονικό τρινάτριο, 5-{4-χλωρο-6-[2-(4,6-διχλωρο-5-κυανοπυριμιδιν-2-υλαμινο)-1-μεθυλαιθυλαμινο]-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο}-4-υδροξυ-3-(1-σουλφονικοναφθαλιν-2-υλαζω)-ναφθαλινο-2,7-δισουλφονικό τρινάτριο							
611-117-00-7	1,3-δις-{6-φθορο-4-[1,5-δισουλφο-4-(3-αμινοκαρβονυλ-1-αιθυλ-6-υδροξυ-4-μεθυλο-πυριδ-2-ον-5-υλαζω)-φαινυλ-2-υλαμινο]-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο}προπάνιο, άλας λιθίου νατρίου		415-100-3	149850-29-3	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-118-00-2	άλας νατρίου του 1,2-δις-[4-[4-{4-(4-σουλφοφαινυλαζω)-2-σουλφοφαινυλαζω}-2-ουρεΐδοφαινυλαμινο]-6-φθορο-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο]-προπάνιο		413-990-8	149850-31-7	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-119-00-8	4-[4-χλωρο-6-(4-μεθυλο-2-σουλφοφαινυλαμινο)-[1,3,5]-τριαζιν-2-υλαμινο]-6-(4,5-διμεθυλο-2-σουλφοφαινυλαζο)-5-υδροξυναφθαλινο-2,7-δισουλφονικό τετρανάτριο		415-400-4	148878-22-2	Xi; R41 R 43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		
611-120-00-3	Το με νάτριο άλας του 5-{4-[5-αμινο-2-[4-(2-σουλφοξυαιθυλοσουλφονυλο)φαινυλαζω]-4-σουλφοφαινυλαμινο]-6-χλωρο-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο}-4-υδροξυ-3-(1-σουλφοναφθαλιν-2-υλαζω)-ναφθαλινο-2,7-δισουλφονικού οξέος.		418-340-7	157707-94-3	Xi; R41 R 52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)22-26-39-61		
611-121-00-9	Κύριο συστατικό 6 (ισομερές): ασυμ. 1:2 σύμπλοκο χαλκού (ΙΙΙ) των: Α: 3-υδροξυ-4-(2-		417-280-9	30785-74-1	Xi; R41 N; R50-53	Xi; N R: 41-50/53 S: (2-)26-39-60-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	υδροξυναφθαλιν-1-υλαζω)-ναφθαλινο-1-σουλφονικού οξέος, άλατος νατρίου και Β: 1-[2-υδροξυ-5-(4-μεθοξυφαινυλαζω)-φαινυλαζω]-ναφθαλιν-2-όλης; Κύριο συστατικό 8 (ισομερές): ασυμ. 1:2 σύμπλοκο χαλκού των: Α: 3-υδροξυ-4-(2-υδροξυναφθαλινο-1-υλαζω)-ναφθαλινο-1-σουλφονικού οξέος, άλατος νατρίου και Β: 1-[2-υδροξυ-5-(4-μεθοξυφαινυλαζω)-φαινυλαζω]-ναφθαλιν-2-όλης							
611-122-00-4	εξανατριούχο (δι[Ν-(3-(4-[5-(5-αμινο-3-μεθυλο-1-φαινυλοπυραζολ-4-υλ-αζω)-2,4-δισουλφοανιλινο]-6-χλωρο-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο)φαινυλο)-σουλφαμοϋλο](δι-σουλφο)-φθαλοκυανινικό)νικέλιο		417-250-5	151436-99-6	Xi; R41 R 43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		
611-123-00-X	γαλακτικό 3-(2,4-δις(4-((5-(4,6-δις(2-αμινοπροπυλαμινο)-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο)-4-υδροξυ-2,7-δισουλφοναφθαλιν-3-υλ)αζω)φαινυλαμινο)-1,3,5-τριαζιν-6-υλαμινο)προπυλοδιαιθυλαμμώνιο		424-310-4	178452-66-9	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
611-124-00-5	Μείγμα από: 5-αμινο-3-(5-}4-χλωρο-6-[4-(2-σουλφοξυαιθοξυσουλφονικο)φαινυλαμινο]-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο{-2-σουλφονικοφαινυλαζω)-6-[5-(2,3-διβρωμοπροπιονυλαμινο)-2-σουλφονικοφαινυλαζω]-4-υδροξυναφθαλινο-2,7-δισουλφονικό πεντανάτριο, 5-αμινο-6-[5-(2-βρωμοακρυλοϋλαμινο)-2-σουλφονικοφαινυλαζω]-3-(5-}4-χλωρο-6-[4-(2-σουλφοξυαιθοξυσουλφονικο)φαινυλαμινο]-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο{-2-σουλφονικοφαινυλαζω)-4-υδροξυναφθαλινο-2,7-δισουλφονικό πεντανάτριο, 5-αμινο-3-[5-{4-χλωρο-6-[4-		424-320-9	180778-23-8	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	(βινυλοσουλφονυλο)φαινυλαμινο]-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο}-2-σουλφονικοφαινυλαζω]-6-[5-(2,3-διβρωμοπροπιονυλαμινο)-2-σουλφονατοφαινυλαζω]-4-υδροξυναφθαλινο-2,7-δισουλφονικό τετρανάτριο							
611-125-00-0	Μείγμα από: Το δινάτριο σύμπλοκο του 6-[3-καρβοξυ-4,5 διϋδρο-5-οξο-4-σουλφονικοφαινυλ)πυραζολιν-4-υλαζω]-3-[2-οξειδο-4-(αιθενσουλφονυλο)-5-μεθοξυφαινυλαζω]-4-οξειδοναφθαλινο-2-σουλφονικού χαλκού (ΙΙ) Το δινάτριο σύμπλοκο του 6-[3-καρβοξυ-4,5 διϋδρο-5-οξο-4-σουλφονικοφαινυλ)πυραζολιν-4-υλαζω]-3-[2-οξειδο-4-(2-υδροξυαιθυλοσουλφονυλο)-5-μεθοξυφαινυλαζω]-4-οξειδοναφθαλινο-2-σουλφονικού χαλκού (ΙΙ)		423-940-7	-	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		
611-126-00-6	διχλωριούχος 2,6-δις-(2-(4-(4-αμινοφαινυλαμινο)-φαινυλαζω)-1,3-διμεθυλο-3Η-ιμιδαζωλο)-4-διμεθυλαμινο-1,3,5-τριαζίνη		424-120-1	174514-06-8	Xi; R41 N; R50-53	Xi; N R: 41-50/53 S: (2-)26-39-60-61		
611-127-00-1	4-αμινο-6-(5-(4-(2-αιθυλοφαινυλαμινο)-6-(2-σουλφικοαιθανοσουλφονυλο)-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο)-2-σουλφονικοφαινυλαζω)-5-υδροξυ-3-(4-(2-σουλφονικοαιθανοσουλφονυλο)φαινυλαζω)ναφθαλινο-2,7-δισουλφονικό πεντανάτριο		423-790-2	-	R 5 Xi; R41 R 43 R 52-53	Xi R: 5-41-43-52/53 S: (2-)22-26-36/37/39-41-61		
611-128-00-7	Το μετά νατρίου άλας του N,N΄-δις-{6-χλωρο-4-[6-(4-βινυλοσουλφονυλοφαινυλαζω)-2,7-δισουλφονικό οξύ -5-υδροξυ-ναφθ-4-υλαμινο]-1,3,5-τριαζιν-2-υλ}-N-(2-υδροξυαιθυλο)-αιθανο-1,2-διαμίνη ,		419-500-9	171599-85-2	Xi; R41 R 43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		
611-129-00-2	Μίγμα: 5-[(4-[(7-αμινο-1-υδροξυ-3-σουλφο-2-ναφθυλ)αζο]-2,5-		418-230-9	163879-69-4	E; R2 Repr.Cat.3; R62	E; Xn; N R: 2-43-48/22-62-		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	διαιθοξυφαινυλ)αζο]-2-[(3-φωσφονοφαινυλ)αζο]βενζοϊκοϋ οξέος; 5-[(4-[(7-αμινο-1-υδροξυ-3-σουλφο-2-ναφθυλ)αζο]-2,5-διαιθοξυφαινυλ)αζο]-3-[(3-φωσφονοφαινυλ)αζο]βενζοϊκοϋ οξέος				Xn; R48/22 R 43 N; R51-53	51/53 S: (2-)26-35-36/37-61		
611-130-00-8	2-[6-[7-(2-καρβοξυλικο-φαινυλαζω)-8-υδροξυ-3,6-δι-σουλφονικο-1-ναφθυλαμινο]-4-υδροξυ-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο]βενζοϊκό τετραμμώνιο		418-520-5	183130-96-3	Xi; R36 N; R50-53	Xi; N R: 36-50/53 S: (2-)26-39-60-61		
611-131-00-3	2-[2-υδροξυ-3-(2-χλωροφαινυλ)καρβαμοϋλο-1-ναφθυλαζο]-7-[2-υδροξυ-3-(3-μεθυλοφαινυλο) καρβαμοϋλο-1-ναφθυλαζο]φθορεν-9-όνη		420-580-2	-	Repr.Cat.2; R61 R 53	T R: 61-53 S: 53-45-61		
611-132-00-9	δις{7-[4-(1-βουτυλο-5-κυανο-1,2-διυδρο-2-υδροξυ-4-μεθυλο-6-οξο-3-πυριδυλαζω)φαινυλοσουλφονυλαμινο]-5´-νιτρο-3,3´-δισουλφονικοναφθαλινο-2-αζωβενζολο-1,2´-διολικο}χρωμικό (ΙΙΙ) πεντανάτριο		419-210-2	-	Xi; R41 R 52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
611-133-00-4	Προϊόν καθορισμένης διαδικασίας (product-by-process): σύμπλοκο σιδήρου με αζωχρώματα λαμβανόμενο με σύζευξη μείγματος διαζωτωμένου 2-αμινο-1-υδροξυβενζολο-4-σουλφανιλιδίου και 2-αμινο-1-υδροξυβενζολο-4-σουλφοναμιδίου με ρεσορκίνη, το λαμβανόμενο μείγμα στη συνέχεια υποβάλλεται σε δεύτερη αντίδραση σύζευξης με μείγμα από διαζωτωμένο 3-αμινοβενζολο-1-σουλφονικό οξύ (μετανιλικό οξύ) και 4´-αμινο-4-νιτρο-1,1´-διφαινυλαμινο-2-σουλφονικό οξύ και επιμετάλλωση με χλωρίδιο του σιδήρου (ΙΙΙ), άλας νατρίου		419-260-5	-	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		
611-134-00-X	2-{α[2-υδροξυ-3-[4-χλωρο-6-[4-(2,3-διβρωμοπροπιονυλαμινο)-2-		423-770-3	-	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	σουλφονικοφαινυλαμινο]-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο]-5-σουλφονικοφαινυλαζω]-βενζυλιδενυδραζινο}-4-σουλφονικοβενζοϊκό τρινάτριο, σύμπλοκο χαλκού					S: (2-)22-26-39-61		
611-135-00-5	Προϊόν αντιδράσεως 2-[[4-αμινο-2-ουρεϊδοφαινυλαζω]-5-[(2-(σουλφοξυ)αιθυλο)σουλφονυλο]]βενζολοσουλφονικού οξέος με 2,4,6-τριφθοροπυριμιδίνη και μερική υδρόλυση στο αντίστοιχο βινυλοσουλφονυλοπαράγωγο, μεικτό άλας καλίου/νατρίου		424-250-9	-	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
611-136-00-0	μυρμηκικό 2-{4-(2-αμμωνιοπροπυλαμινο)-6-[4-υδροξυ-3-(5-μεθυλο-2-μεθοξυ-4-σουλφαμοϋλοφαινυλαζω)-2-σουλφονικοναφθ-7-υλαμινο]-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο}-2-αμινοπροπύλιο		424-260-3	-	Repr.Cat.3; R62 Xi; R41 N; R51-53	Xn; N R: 41-62-51/53 S: (2-)22-26-36/37/39-61		
611-137-00-6	6-τριτ.-βουτυλο-7-χλωρο-3-δεκατριυλο-7,7a-διυδρο-1H-πυραζολο[5,1-c]-1,2,4-τριαζόλιο		419-870-1	159038-16-1	R 53	R: 53 S: 61		
611-138-00-1	2-(4-αμινοφαινυλ)-6-tert-βουτυλο-1H-πυραζολο[1,5-b][1,2,4]τριαζόλιο		415-910-7	152828-25-6	R43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)22-24-37-61		
611-140-00-2	azafenidin		-	68049-83-2	T; R48/22 Repr. Cat. 2; R61 Repr. Cat. 3; R62 N; R50-53	T; N R: 61-48/22-62-50/53 S: 53-45-60-61	$C \geq 0.025$ %: N; R50/53 0.0025 % $\leq C < 0.025$ %: N; R51/53 0.00025 % $\leq C < 0.0025$ %: R52/53	
612-184-00-5	6´-(διβουτυλαμινο)-3´-μεθυλο-2´-(φαινυλαμινο)σπιρο[ισοβενζοφουρανο-1(3H),9-(9H)-ξανθεν]-3-όνη		403-830-5	89331-94-2	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
612-185-00-0	ιωδιούχο 1-[3-[4-((δεκαεπταφθορονονυλ)οξυ)βενζαμιδο]προπυλο]-N,N,N-τριμεθυλαμμώνιο		407-400-8	59493-72-0	Xi; R41 N; R50-53	Xi; N R: 41-50/53 S: (2-)26-39-60-61		
612-186-00-6	θειικό δις((N-7-υδροξυ-8-μεθυλο-5-φαινυλοφαιναζίν-3 υλίδενο) διμεθυλαμμώνιο		406-770-8	149057-64-7	Xn; R48/22 Xi; R41 R 43 N; R50-53	Xn; N R: 41-43-48/22-50/53 S: (2-)22-26-36/37/39-60-61		
612-187-00-1	2,3,4-τριφθοροανιλίνη		407-170-9	3862-73-5	Xn; R21/22-48/22	Xn; N		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
					Xi; R38-41 N; R51-53	R: 21/22-38-41-48/22-51/53 S: (2-)23-26-36/37/39-61		
612-188-00-7	4,4'-(9H-φθορεν-9-υλιδενο)δις(2-χλωροανιλίνη)		407-560-9	107934-68-9	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
612-189-00-2	διυδροχλωρική 4-αμινο-2-(αμινομεθυλο)-φαινόλη		412-510-4	135043-64-0	Xn; R22 R 43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)22-24-37-60-61		
612-190-00-8	4,4΄-μεθυλενοδις-(2-ισοπροπυλο-6-μεθυλανιλίνη)		415-150-6	16298-38-7	Xn; R48/22 N; R51-53	Xn; N R: 48/22-51/53 S: (2-)36-61		
612-191-00-3	Πολυμερές της υδροχλωριούχου αλλυλαμίνης		415-050-2	71550-12-4	Xn; R22 R 43	Xn R: 22-43 S: (2-)36/37		
612-192-00-9	2-ισοπροπυλο-4-(N-μεθυλ)αμινομεθυλοθειαζόλιο		414-800-6	154212-60-9	Xn; R21/22 Xi; R38-41 N; R51-53	Xn; N R: 21/22-38-41-51/53 S: (2-)26-36/37/39-61		
612-193-00-4	3-μεθυλαμινομεθυλοφαινυλαμίνη		414-570-7	18759-96-1	Xn; R21/22 C; R34 R 43 N; R50-53	C; N R: 21/22-34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61		
612-194-00-X	χλωρίδιο του 2-υδροξυ-3-[(2-υδροξυαιθυλο)-[2-(1-οξοδεκατετρυλο)αμινο]αιθυλο]αμινο]-N,N,N-τριμεθυλο-1-προπανοαμμωνίου		414-670-0	141890-30-4	Xn; R22 Xi; R41 N; R50-53	Xn; N R: 22-41-50/53 S: (2-)26-39-60-61		
612-195-00-5	1,5-ναφθαλινοδισουλφονικό δις[τριβουτυλ-4-(μεθυλοβενζυλ)αμμώνιο]		415-210-1	-	Xn; R20/22 Xi; R41 N; R50-53	Xn; N R: 20/22-41-50/53 S: (2-)26-36/39-60-61		
612-196-00-0	4-χλωρο-*o*-τολουιδίνη [1] υδροχλωρικό άλας της 4-χλωρο-*o*-τολουιδίνης [2]	E	202-441-6 [1] 221-627-8 [2]	95-69-2 [1] 3165-93-3 [2]	Carc.Cat.2; R45 Muta.Cat.3; R68 T; R23/24/25 N; R50-53	T; N R: 45-23/24/25-68-50/53 S: 53-45-60-61		
612-197-00-6	2,4,5-τριμεθυλανιλίνη [1] υδροχλωρικό άλας της 2,4,5-τριμεθυλανίνης [2]	E	205-282-0 [1] - [2]	137-17-7 [1] 21436-97-5 [2]	Carc.Cat.2; R45 T; R23/24/25 N; R51-53	T; N R: 45-23/24/25-51/53 S: 53-45-61		
612-198-00-1	4,4'-θειοδιανιλίνη και τα άλατά της	E	205-370-9	139-65-1	Carc.Cat.2; R45 Xn; R22 N; R51-53	T; N R: 45-22-51/53 S: 53-45-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευάσματα
612-199-00-7	4,4'-οξυδιανιλίνη και τα άλατά του π-αμινοφαινυλαιθέρα	E	202-977-0	101-80-4	Carc.Cat.2; R45 Muta.Cat.2; R46 Repr.Cat.3; R62 T; R23/24/25 N; R51-53	T; N R: 45-46-23/24/25-62-51/53 S: 53-45-61		
612-200-00-0	2,4-διαμινοανισόλη 4-μεθοξυ-*m*-φαινυλενοδιαμίνη [1] θειική 2,4-διαμινοανισόλη [2]		210-406-1 [1] 254-323-9 [2]	615-05-4 [1] 39156-41-7 [2]	Carc.Cat.2; R45 Muta.Cat.3; R68 Xn; R22 N; R51-53	T; N R: 45-22-68-51/53 S: 53-45-61		
612-201-00-6	*N,N,N',N'*-τετραμεθυλο-4,4'-μεθυλενοδιανιλίνη		202-959-2	101-61-1	Carc.Cat.2; R45 N; R50-53	T; N R: 45-50/53 S: 53-45-60-61		
612-202-00-1	3,4-διχλωροανιλίνη		202-448-4	95-76-1	T; R23/24/25 Xi; R41 R43 N; R50-53	T; N R: 23/24/25-41-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61		
612-204-00-2	C.I. Basic Violet 3 χλωριούχο 4-[4,4'-δις(διμεθυλαμινο) βενζυδρυλιδενο]κυκλοεξα-2,5-διεν-1-υλιδενο]διμεθυλαμμώνιο		208-953-6	548-62-9	Carc.Cat.3; R40 Xn; R22 Xi; R41 N; R50-53	Xn; N R: 22-40-41-50/53 S: (2-)26-36/37/39-46-60-61		
612-205-00-8	C.I. Basic Violet 3 με $\geq$ 0,1% κετόνης του Michler (αριθ. ΕΚ 202-027-5)	E	208-953-6	548-62-9	Carc.Cat.2; R45 Xn; R22 Xi; R41 N; R50-53	T; N R: 45-22-41-50/53 S: 53-45-60-61		
612-206-00-3	famoxadone 3-ανιλινο-5-μεθυλο-5-(4-φαινοξυφαινυλ)-1,3-οξαζολιδινο-2,4-διόνη		-	131807-57-3	Xn; R48/22 N; R50-53	Xn; N R: 48/22-50/53 S: (2-)46-60-61		
612-209-00-X	6-μεθοξυ-*m*-τολουιδίνη *p*-κρεσιδίνη	E	204-419-1	120-71-8	Carc.Cat.2; R45 Xn; R22	T R: 45-22 S: 53-45		
612-210-00-5	5-νιτρο-*o*-τολουιδίνη [1] υδροχλωρικό άλας της 5-νιτρο-*o*-τολουιδίνης [2]		202-765-8 [1] 256-960-8 [2]	99-55-8 [1] 51085-52-0 [2]	Carc.Cat.3; R40 T; R23/24/25 R52-53	T R: 23/24/25-40-52/53 S: (1/2-)36/37-45-61		
612-211-00-0	N-[(βενζοτριαζολ-1-υλο)μεθυλ)]-4-καρβοξυ βενζολοσουλφοναμίδιο		416-470-9	-	Xi; R36 N; R51-53	Xi; N R: 36-51/53 S: (2-)26-61		
612-212-00-6	2,6-διχλωρο-4-τριφθορομεθυλανιλίνη		416-430-0	24279-39-8	Xn; R20/22 Xi; R38 R43	Xn; N R: 20/22-38-43-50/53 S: (2-)24-37-60-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
					N; R50-53			
612-213-00-1	ισοβουτυλιδεν-(2-(2-ισοπροπυλο-4,4-διμεθυλοξαζολιδιν-3-υλ)-1,1-διμεθυλαιθυλ)αμίνη		419-850-2	148348-13-4	C; R34 R52-53	C R: 34-52/53 S: (1/2-)23-26-36/37/39-45-61		
612-214-00-7	4-(2,2-διφαινυλαιθενυλο)-N,N-δι-φαινυλοβενζολαμίνη		421-390-2	89114-90-9	R 53	R: 53 S: 61		
612-215-00-2	3-χλωρο-2-(ισοπροπυλοθειο)ανιλίνη		421-700-6	179104-32-6	Xi; R38 N; R51-53	Xi; N R: 38-51/53 S: (2-)37-61		
612-217-00-3	1-μεθοξυ-2-προπυλαμίνη		422-550-4	37143-54-7	F; R11 C; R34 Xn; R22 R52-53	F; C R: 11-22-34-52/53 S: (1/2-)9-26-36/37/39-45-61		
613-181-00-1	5,5-διμεθυλο-υπερυδρο-πυριμιδιν-2-όνη α(4-τριφθορομεθυλοστυρυλο)-α-(4-τριφθορομεθυλο)κινναμυλιδένοϋδραζόνη		405-090-9	67485-29-4	T; R48/25 Xn; R22 Xi; R36 N; R50-53	T; N R: 22-36-48/25-50/53 S: (1/2-)22-26-36/37-45-60-61		
613-182-00-7	χλωρίδιο του 1-(1-ναφθυλομεθυλο)κινολινίου		406-220-7	65322-65-8	Carc.Cat.3; R40 Muta.Cat.3; R68 Xn; R22 Xi; R38-41 R 52-53	Xn R: 22-38-40-41-52/53-68 S: (2-)22-26-36/37/39-61		
613-183-00-2	Μίγμα των: 5-(N-μεθυλο-υπερφθοροοκτυλοσουλφοναμιδο)-μεθυλο-3-δεκαοκτυλο-1,3-οξαζολιδιν-2-όνη, 5-(N-μεθυλο-υπερφθοροεπτυλοσουλφοναμιδο)-μεθυλο-3-δεκαοκτυλο-1,3-οξαζολιδιν-2-όνη		413-640-4	-	Xn; R48/22 N; R50-53	Xn; N R: 48/22-50/53 S: (2-)36-60-61		
613-184-00-8	2-αιθυλοεξανοϊκή νιτριλοτριαιθυλενοαμμονοπροπαν-2-όλη		413-670-8	-	Xi; R36 R 43	Xi R: 36-43 S: (2-)24-26-37		
613-185-00-3	2,3,5,6-τετραυδρο-2-μεθυλο-2H-κυκλοπεντα[d]-1,2-θειαζολ-3-όνη		407-630-9	82633-79-2	T; R25 Xi; R41 R 43 N; R50-53	T; N R: 25-41-43-50/53 S: (1/2-)22-26-36/37/39-45-60-61		
613-186-00-9	οξικό (2R,3R)-3-((R)-1-(tert-βουτυλοδιμεθυλοσιλοξυ)αιθυλο)-4-οξοαζετιδιν-2-ύλιο		408-050-9	76855-69-1	Xi; R36 R 43 N; R51-53	Xi; N R: 36-43-51/53 S: (2-)24-26-37-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**EC No**	**CAS No**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Ορια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
613-188-00-X	1-(3-(4-φθοροφαινοξυ)προπυλο)-3-μεθοξυ-4-πιπεριδινόνη		411-500-7	116256-11-2	Xn; R22 Xi; R41 R 43 N; R51-53	Xn; N R: 22-41-43-51/53 S: (2-)22-24-26-37/39-61		
613-189-00-5	1,4,7,10-τετράκις(p-τολουολοσουλφονυλο)-1,4,7,10-τετραζακυκλοδωδεκάνιο		414-030-0	52667-88-6	R 43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-60-61		
613-190-00-0	1-αμινο-4-(2-(5-χλωρο-6-φθοροπυριμιδιν-4-υλαμινο-μεθυλο)-4-μεθυλο-6-σουλφοφαινυλαμινο)-9,10-διοξο-9,10-διυδροανθρακενο-2-σουλφονικό δινάτριο		414-040-5	149530-93-8	Xn; R22 R 43	Xn R: 22-43 S: (2-)22-24-37		
613-191-00-6	3-αιθυλο-2-μεθυλο-2-(3-μεθυλοβουτυλο)-1,3-οξαζολιδίνη		421-150-7	143860-04-2	Repr.Cat.2; R60 C; R34 N; R50-53	T; N R: 60-34-50/53 S: 53-45-60-61		
613-193-00-7	επταγαλακτικός πεντάκις[3-(διμεθυλαμμωνιο)προπυλοσουλφαμοϋλ]-[(6-υδροξυ-4,4,8,8-τετραμεθυλο-4,8-διαζονιενδεκανο-1,11-διυλοδισουλφαμοϋλο)δι[φθαλοκυανικός χαλκός(II)]]		414-930-3	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
613-194-00-2	Το μετά λιθίου, νατρίου άλας του 6,13-διχλωρο-3,10-δις{2-[4-φθορο-6-(2-σουλφοφαινυλαμινο)-1,3,5-τριαζιν-2-υλαμινο]προπυλαμινο}βενζο[5,6][1,4]οξαζινο[2,3-b]φαινοξαζινο-4,11-δισουλφονικού οξέος.		418-000-8	163062-28-0	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
613-195-00-8	2,2-(1,4-φαινυλενο)δις((4H-3,1-βενζοξαζιν-4-όνη)		418-280-1	18600-59-4	R 43 R 53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
613-196-00-3	Το με νάτριο άλας του 5-[[4-χλωρο-6-[[2-[[4-φθορο-6-[[5-υδροξυ-6-[(4-μεθοξυ-2-σουλφοφαινυλ)αζω]-7-σουλφο-2-ναφθαλινυλ]αμινο]-1,3,5-τριαζιν-2-υλ]αμινο]-1-μεθυλαιθυλ]]αμινο]-1,3,5-τριαζιν-2-υλ]αμινο]-3-[[4-(αιθενυλοσουλφονυλο)φαινυλ]αζω]-4-υδροξυ-ναφθαλινο-2,7-δισουλφονικού οξέος,		418-380-5	168113-78-8	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
613-197-00-9	Μίγμα: 2,4,6-τρι(βουτυλοκαρβαμοϋλ)-1,3,5-τριαζίνης, 2,4,6-τρι(μεθυλο καρβαμοϋλο)-1,3,5-τριαζίνης, [(2-βουτυλο-4,6-διμεθυλο)τρικαρβαμοϋλο]-1,3,5-τριαζίνης, [(2,4-διβουτυλο-6-μεθυλο)τρικαρβαμοϋλο]-1,3,5-τριαζίνης		420-390-1	187547-46-2	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61		
613-199-00-X	Μίγμα: 1,3,5-τρι(3-αμινομεθυλοφαινυλ)-1,3,5-(1H,3H,5H)-τριαζινο-2,4,6-τριόνης, Μίγμα ολιγομερών της 3,5-δις(3-αμινομεθυλοφαινυλ)-1-πολυ[3,5-δις(3-αμινομεθυλοφαινυλ)-2,4,6-τριοξο-1,3,5-(1H,3H,5H)-τριαζινο-1-υλ]-1,3,5-(1H,3H,5H)-τριαζινο-2,4,6-τριόνης		421-550-1	-	Carc.Cat.2; R45 Repr.Cat.2; R61 R 43 R 52-53	T R: 45-61-43-52/53 S: 53-45-61		
613-200-00-3	Προϊόν αντιδράσεως: αλάτων νατρίου του (29H,31H-φθαλοκυανικο(2-)-N29,N30,N31,N32)-χλωροθειικού οξέος και 3-(2-σουλφοοξυαιθυλοσουλφονυλ)ανιλίνης,		420-980-7	-	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
613-201-00-9	(R)-5-βρωμο-3-(1-μεθυλ-2-πυρρολιδινυλομεθυλ)-1H-ινδόλιο		422-390-5	143322-57-0	Repr.Cat.3; R62 T; R39-48/25 Xn; R20/22 Xi; R41 R 43 N; R50-53	T; N R: 20/22-39-41-43-48/25-62-50/53 S: (1/2-)53-45-60-61		
613-202-00-4	pymetrozine ISO · πυμετροζίνη (*E*)-4,5-διϋδρο-6-μεθυλο-4-(3-πυριδυλομεθυλεναμινο)-1,2,4-τριαζιν-3(2*H*)-όνη		-	123312-89-0	Carc.Cat3; R40 R52-53	Xn R: 40-52/53 S: (2-)36/37-61		
613-203-00-X	pyraflufen-ethyl· πυραφλουφενικό αιθύλιο [1] pyraflufen · αιθύλιο [2]		- [1] - [2]	129630-19-9 [1] 129630-17-7 [2]	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
613-204-00-5	oxadiargyl ISO 3-[2,4-διχλωρο-5-(2-προπινυλοξυ)φαινυλο]-5-(1,1-διμεθυλαιθυλ)-1,3,4-οξαδιαζολ-		254-637-6	39807-15-3	Repr.Cat3; R63 Xn; R48/22 N; R50-53	Xn; N R: 48/22-63-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευάσματα
	2(3*H*)-όνη 5-*τριτ.*-βουτυλο-3-[2,4-διχλωρο-5-(προπ-2-ινυλοξυ)φαινυλ]-1,3,4-οξαδιαζολ-2(3*H*)-όνη							
613-205-00-0	προπικοναζόλη (+)-1-[2-(2,4-διχλωροφαινυλο)-4-προπυλο-1,3-διοξολαν-2-υλομεθυλο]-1*H*-1,2,4-τριαζόλιο		262-104-4	60207-90-1	Xn; R22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61		
613-206-00-6	fenamidone ISO · φαιναμιδόνη (*S*)-5-μεθυλο-2-μεθυλοθειο-5-φαινυλο-3-φαινυλαμινο-3,5-διυδροϊμιδαζολ-4-όνη		-	161326-34-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
613-207-00-1	υδατικό διάλυμα θειϊκού ιμιδαζολίου υδρογονοθειϊκό 1-[2-(αλλυλοξυ)αιθυλο-2-(2,4-διχλωροφαινυλο)-1Η-ιμιδαζόλιο υδρογονοθειϊκό (±)-1-[2-(αλλυλοξυ) αιθυλο-2-(2,4-διχλωροφαινυλο)]-1Η-ιμιδαζόλιο		261-351-5 281-291-3	58594-72-2 83918-57-4	Xn; R22 C; R34 R43 N; R50-53	C; N R: 22-34-43-50/53 S: (2-)26-36/37/39-45-60-61	C > 50 %: C, Xn, N; R22-34-43-50-53 30 % < C ≤ 50 %: Xn, N; R22-38-41-43-50-53 25 % ≤ C ≤ 30 %: Xn, N; R22-41-43-50-53 15 % < C < 25 %: Xi, N; R41-43-51-53 5 % ≤ C ≤ 15 %: Xi, N; R36-43-51-53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xi, N; R43-51-53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43-52-53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52-53	
613-208-00-7	imazamox		-	114311-32-9	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
613-209-00-2	υδροχλωριούχος cis-1-(3-χλωροπροπυλο)-2,6-διμεθυλο-πιπεριδίνη		417-430-3	63645-17-0	T; R25 Xn; R48/22 R43 N; R51-53	T; N R: 25-43-48/22-51/53 S: (1/2-)22-36/37-45-61		
613-210-00-8	2-(3-χλωροπροπυλο)-2,5,5-τριμεθυλο-1,3-διοξάνιο		417-650-1	88128-57-8	Xn; R48/22 R52-53	Xn R: 48/22-52/53 S: (2-)23-25-36-61		
613-211-00-3	Μεθυλοθειϊκό N-μεθυλο-4-(p-φορμυλοστυρυλο) πυριδίνιο		418-240-3	74401-04-0	R43 R52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)22-24-37-61		
613-212-00-9	4-[4-(2-αιθυλεξυλοξυ)φαινυλο](1,4-θειαζινανο-1,1-διοξείδιο)		418-320-8	133467-41-1	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)22-60-61		
613-213-00-4	(cis)-1-βενζοϋλο-4-[(4-μεθυλοσουλφονυλ)οξυ]-L-		416-040-0	120807-02-5	R 52-53	R: 52/53		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	προλίνη					S: 61		
613-214-00-X	N,N-δι-n-βουτυλο-2-(1,2-διυδρο-3-υδροξυ-6-ισοπροπυλο-2-κινολυλιδεν)-1,3-διοξοϊνδανο-5-καρβοξαμίδιο		416-260-7	147613-95-4	R 53	R: 53 S: 61		
613-215-00-5	χλωριούχο 2-χλωρομεθυλο-3.4-διμεθοξυπυριδίνιο		416-440-5	72830-09-2	Xn; R21/22-48/22 Xi; R38-41 R43 N; R51-53	Xn; N R: 21/22-38-41-43-48/22-51/53 S: (2-)26-36/37/39-61		
613-216-00-0	6-tert-βουτυλο-7-(6-διαιθυλαμινο-2-μεθυλο-3-πυριδυλιμινο)-3-(3-μεθυλοφαινυλο)πυραζολο[3,2-c][1,2,4]τριαζόλιο		416-490-8	-	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
613-217-00-6	4-[3-(3,5-δι-tert-βουτυλ-4-υδροφαινυλο)προπιονυλοξυ]-1-[2-[3-(3,5-δι-tert-βουτυλ-4-υδροξυφαινυλο)προπιονυλοξυ]αιθυλο]-2,2,6,6-τετραμεθυλοπιπεριδίνη		416-770-1	73754-27-5	R 53	R: 53 S: 61		
613-218-00-1	6-υδροξυϊνδόλιο		417-020-4	2380-86-1	Xn; R22 Xi; R41 R43 N; R51-53	Xn; N R: 22-41-43-51/53 S: (2-)24-26-37/39-61		
613-219-00-7	7α-αιθυλο-3,5-δις(1-μεθυλοαιθυλο)-2,3,4,5-τετραϋδρο-οξαζολο[3,4-γ]-2,3,4,5-τετραϋδρο-οξαζόλιο		417-140-7	79185-77-6	Xi; R38 N; R51-53	Xi; N R: 38-51/53 S: (2-)37-61		
613-220-00-2	7,7-διοξείδιο της trans-(4S,6S)-5,6-διυδρο-6-μεθυλο-4H-θειενο[2,3-b]θειοπυραν-4-όλης		417-290-3	147086-81-5	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)36		
613-221-00-8	2-χλωρο-5-μεθυλοπυριδίνη		418-050-0	18368-64-4	Xn; R21/22 Xi; R38 R52-53	Xn R: 21/22-38-52/53 S: (2-)23-25-36/37-61		
613-222-00-3	4-(1-οξο-2-προπενυλο)-μορφολίνη		418-140-1	5117-12-4	Xn; R22-48/22 Xi; R41 R43	Xn R: 22-41-43-48/22 S: (2-)23-26-36/37/39		
613-223-00-9	N-ισοπροπυλο-3-(4-φθοροφαινυλ)-1H-ινδόλιο		418-790-4	93957-49-4	R 53	R: 53 S: 61		
613-224-00-4	2,5-διμερκαπτομεθυλο-1,4-διθειάνιο		419-770-8	136122-15-1	Xn; R22 C; R34 R43	C; N R: 22-34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
					N; R50-53	45-60-61		
613-225-00-X	Μείγμα από:[2-(ανθρακινον-1-υλαμινο)-6-[(5-βενζοϋλαμινο)-ανθρακινον-1-υλαμινο]-4-φαινυλο]-1,3,5-τριαζίνη, 2,6-δις-[(5-βενζοϋλαμινο)-ανθρακινον-1-υλαμινο]-4-φαινυλο-1,3,5-τριαζίνη		421-290-9	-	Xn; R48/22 R53	Xn R: 48/22-53 S: (2-)22-36-61		
613-226-00-5	διχλωριούχο 1-(2-(αιθυλο(4-(4-(4-(4-(αιθυλο(2-πυριδινοαιθυλ)αμινο)-2-μεθυλοφαινυλαζω)βενζοϋλαμινο)-φαινυλαζω)-3-μεθυλοφαινυλ)αμινο) αιθυλοπυριδίνιο		420-950-3	163831-67-2	Xi; R41 N; R50-53	Xi; N R: 41-50/53 S: (2-)26-39-60-61		
613-227-00-0	(+/-)-[(R*,R*)και(R*,S*)]-6-φθορο-3,4-διυδρο-2-οξιρανυλο-2H-1-βενζοπυράνιο		419-600-2	-	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-28-36/37-61		
613-228-00-6	(+/-)-(R*,S*)-6-φθορο-3,4-διυδρο-2-οξιρανυλο-2H-1-βενζοπυράνιο		419-630-6	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 24-61		
613-230-00-7	florasulam ISO 2',6',8-τριφθορο-5-μεθοξυ-5-τριαζολο[1,5-c] πυριμιδινο-2-σουλφονανιλίδιο		-	145701-23-1	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
613-233-00-3	4,4΄-(οξυ-(διμεθυλενο))-δις-1,3-διοξολάνη		423-230-7	56552-15-9	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
614-028-00-1	Μίγμα: μονο-D-γλυκοπυρανοσιδικού 2-αιθυλεξυλεστέρα, δι-D-γλυκοπυρανοσιδικού 2-αιθυλεξυλεστέρα		414-420-0	-	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
614-029-00-7	Συντακτικά ισομερή του πεντα-O-αλλυλο-β-D-φρουκτοφουρανοσυλο-α-D-γλυκοπυρανοσιδίου, Συντακτικά ισομερή του εξα-O-αλλυλο-β-D-φρουκτοφουρανοσυλο-α-D-γλυκοπυρανοσιδίου, Συντακτικά ισομερή του επτα-O-αλλυλο-β-D-φρουκτοφουρανοσυλο-α-D-γλυκοπυρανοσιδίου		419-640-0	68784-14-5	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)		
615-030-00-5	άλατα αλκαλίων,	A	-	-	Xn; R20/21/22	Xn		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	άλατα αλκαλικών γαιών και λοιπά άλατα του θειοκυανικού οξέος μη αναφερόμενα σε άλλα σημεία του παρόντος Παραρτήματος				R32 R52-53	R: 20/21/22-32-52/53 S: (2-)13-61		
615-031-00-0	άλας θαλλίου του θειοκυανικού οξέος	A	222-571-7	3535-84-0	Xn; R20/21/22 R32 N; R51-53	Xn; N R: 20/21/22-32-51/53 S: (2-)13-61		
615-032-00-6	μεταλλικά άλατα του θειοκυανικού οξέος μη αναφερόμενα σε άλλα σημεία του παρόντος Παραρτήματος	A	-	-	Xn; R20/21/22 R32 N; R50-53	Xn; N R: 20/21/22-32-50/53 S: (2-)13-60-61		
616-092-00-6	Προϊόν πολυμερικής αντίδρασης των δικυκλο[2.2.1]επτα-2,5-διενίου, αιθενίου, 1,4-εξαδιενίου, 1-προπενίου με N,N-δι-2-προπενυλοφορμαμίδιο		404-035-6	-	R 43 R 53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
616-093-00-1	Προϊόντα αντιδράσεως: συμπυκνώματος ανιλίνης, τερεφθαλαλδεΰδης και ο-τολουιδίνης με μηλεϊνικό ανυδρίτη		406-620-1	129217-90-9	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61		
616-094-00-7	3,3'-δικυκλοεξυλο-1,1'-μεθυλενοδις(4,1-φαινυλενο)διουρία		406-370-3	58890-25-8	R 43 R 53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
616-095-00-2	3,3'-διδεκαοκτυλο-1,1'-μεθυλενοδις(4,1-φαινυλενο)διουρία		406-690-3	43136-14-7	R 53	R: 53 S: 61		
616-096-00-8	N-(3-δεκαεξυλοξυ-2-υδροξυπροπ-1-υλο)-N-(2-υδροξυαιθυλο)παλμιταμίδιο		408-110-4	110483-07-3	R 53	R: 53 S: 61		
616-097-00-3	N,N΄-1,4-φαινυλενοδις(2-((2-μεθοξυ-4-νιτροφαινυλο)αζω)-3-οξυβουταναμίδιο		411-840-6	83372-55-8	R 53	R: 53 S: 61		
616-098-00-9	1-[4-χλωρο-3-((2,2,3,3,3-πενταφθοροπροποξυ)μεθυλο)φαινυλο]-5-φαινυλο-1H-1,2,4-τριαζολο-3-καρβοξαμίδιο		411-750-7	119126-15-7	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
616-099-00-4	2-[4-[(4-υδροξυφαινυλο)σουλφονυλο]φαινοξυ]-4,4-διμεθυλο-N-[5-[(μεθυλοσουλφονυλ) αμινο]-2-[4-(1,1,3,3-τετρα μεθυλοβουτυλο)φαινοξυ]φαινυλ]-3-οξοπενταναμίδιο		414-170-2	135937-20-1	R 53	R: 53 S: 61		
616-100-00-8	1,3-διμεθυλο-1,3-		414-180-7	10218-17-4	Xn; R22	Xn		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	δις(τριμεθυλοσιλυλ)ουρία				Xi; R38	R: 22-38 S: (2-)36/37		
616-101-00-3	(S)-N-tert-βουτυλο-1,2,3,4-τετραϋδρο-3-ισοκινολινοκαρβοξαμίδιο		414-600-9	149182-72-9	Xn; R22 R 52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)61		
616-102-00-9	Μείγμα από: α-[3-(3-μερκαπτοπροπανοξυκαρβονυλαμινο)μεθυλοφαινυλαμινοκαρβονυλο]-ω-[3-(3-μερκαπτοπροπανοξυκαρβονυλαμινο)μεθυλοφαινυλαμινοκαρβονυλοξυ]-πολυ-(οξυαιθυλενο-συν-οξυπροπυλένιο); 1,2-(ή 1,3-)δις[α-(3-μερκαπτοπροπανοξυκαρβονυλαμινο)μεθυλοφαινυλαμινοκαρβονυλ)-ω-οξυ-πολυ(οξυαιθυλενο-συν-οξυπροπυλενο)]-3-(ή 2-)προπανόλη; 1,2,3-τρις[α-(3-μερκαπτοπροπανοξυκαρβονυλ-αμινο)μεθυλοφαινυλαμινοκαρβονυλ)-ω-οξυ-πολυ-(οξυαιθυλενο-συν-οξυπροπυλενο)]προπάνιο]		415-870-0	-	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)36/37-61		
616-103-00-4	(S,S)-(trans)-4-(ακετυλαμινο)-5,6-διυδρο-6-μεθυλο-7,7-διοξο-4H-θειενο[2,3-b]θειοπυρανο-2-σουλφοναμίδιο		415-030-3	120298-38-6	R43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-60-61		
616-104-00-X	benalaxyl *N*-(2,6-διμεθυλοφαινυλο)-*N*-(φαινυλακετυλ)-DL-αλανινικό μεθύλιο		275-728-7	71626-11-4	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-105-00-5	chlorotoluron· χλωροτολουρόνη 3-(3-χλωρο-*π*-τολυλο)-1,1-διμεθυλουρία		239-592-2	15545-48-9	Carc. Cat. 3; R40 Repr. Cat. 3; R63 N; R50-53	Xn; N R: 40-63-50/53 S: (2-)36/37-26-46-60-61		
616-106-00-0	phenmedipham (ISO) 3-(3-μεθυλοκαρβανιλοϋλοξυ)καρβανιλικό μεθύλιο		237-199-0	13684-63-4	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-108-00-1	iodosulfuron-methyl-sodium· ιωδοσουλφουρονο-μεθυλο-νάτριο		-	144550-36-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-109-00-7	sulfosulfuron · σουλφοσουλφουρόνη 1-(4,6-διμεθοξυπυριμιδιν-2-υλο)-3-(2-αιθυλοσουλφονυλιμιδαζο[1,2-a]πυριδιν-3-υλο)σουλφονυλουρία		-	141776-32-1	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
616-110-00-2	cyclanilide· κυκλανιλίδιο 1-(2,4-διχλωροανιλινοκαρβονυλο)κυκλοπροπανοκαρβοξυλικό οξύ		419-150-7	113136-77-9	Xn; R22 N; R51-53	Xn; N R: 22-51/53 S: (2-)61		
616-111-00-8	fenhexamid· φαινεξαμίδιο N-(2,3-διχλωρο-4-υδροξυφαινυλο)-1-μεθυλοκυκλοεξανοκαρβοξαμίδιο		422-530-5	126833-17-8	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
616-112-00-3	oxasulfuron· οξασουλφουρόνη 2-[(4,6-διμεθυλοπυριμιδιν-2-υλο]-καρβαμοϋλοσουλφαμοϋλο]βενζοϊκό οξεταν-3-ύλιο		-	144651-06-9	Xn; R48/22 N; R50-53	Xn; N R: 48/22-50/53 S: (2-)46-60-61		
616-113-00-9	desmedipham 3-φαινυλοκαρβαμοϋλοξυφαινυλοκαρβαμιδικό αιθύλιο		237-198-5	13684-56-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61	C ≥ 2,5 %: N; R50/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: N; R51/53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52/53	
616-114-00-4	N,N'-(9,9',10,10'-τετραϋδρο-9,9',10,10'-τετραοξο(1,1'-διανθρακενο)-4,4'-διυλο)δις-δωδεκαμίδιο		418-010-2	136897-58-0	R53	R: 53 S: 22-61		
616-115-00-X	N-(3-ακετυλ-2-υδροξυ φαινυλ)-4-(4-φαινυλο βουτοξυ)βενζαμίδιο		416-150-9	136450-06-1	R 53	R: 53 S: 61		
616-116-00-5	N-(4-διμεθυλαμινο πυριδινιο)-3-μεθοξυ-4-(1-μεθυλο-5-νιτροϊνδολ-3-υλομεθυλ-N-(ο-τολυλο σουλφονυλο)βενζαμιδικός εστέρας		416-790-9	-	R 53	R: 53 S: 61		
616-117-00-0	N-[2-(3-ακετυλο-5-νιτροθειοφαιν-2-υλαζο-5-διαιθυλαμινοφαινυλ]ακεταμίδιο		416-860-9	-	Repr.Cat.3; R62 R43 N; R50-53	Xn; N R: 43-62-50/53 S: (2-)22-36/37-60-61		
616-118-00-6	υδροχλωρικό N-(2',6'-διμεθυλοφαινυλο)-2-πιπεριδινοκαρβοξαμίδιο		417-950-0	65797-42-4	Xn; R22 R52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)22-61		
616-119-00-1	2(1-βουτυλο-3,5-διοξο-2-φαινυλο-1,2,4-τριαζολιδιν-4-υλο)-4,4-διμεθυλο-3-οξο-N-(2-μεθοξυ-5-(2-(δωδεκυλο-1-σουλφονυλο)προπιονυλαμινο)-φαινυλο)-πενταναμίδιο		418-060-5	118020-93-2	R 53	R: 53 S: 61		
616-120-00-7	Μείγμα από: N-(3-διμεθυλαμινο-4-μεθυλο-φαινυλο)-βενζαμίδιο, N-(3-διμεθυλαμινο-2-μεθυλο-φαινυλο)-βενζαμίδιο, N-(3-διμεθυλαμινο-3-μεθυλο-φαινυλο)-βενζαμίδιο		420-600-1	-	Xn; R48/22 N; R51-53	Xn; N R: 48/22-51/53 S: (2-)36/37-61		
616-121-00-2	2,4-διυδροξυ-N-(2-μεθοξυ-		419-090-1	129205-19-2	R 43	Xi; N		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	φαινυλο)-βενζαμίδιο				N; R51-53	R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61		
616-123-00-3	N-3-[[4-(διαιθυλαμινο)-2-μεθυλοφαινυλ]ιμινο-6-οξυ-1,4-κυκλοεξαδιενυλ]ακεταμίδιο		414-740-0	96141-86-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-124-00-9	δις(τριφθορομεθυλοσουλφονυλ)ιμιδιο του λιθίου		415-300-0	90076-65-6	T; R24/25 C; R34 R 52-53	T R: 24/25-34-52/53 S: (1/2-)22-26-36/37/39-45-61		
616-125-00-4	3-κυανο-N-(1,1-διμεθυλαιθυλ)ανδροστα-3,5-διενο-17-β-καρβοξαμίδιο		415-730-9	151338-11-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-127-00-5	Μίγμα: N,N□-αιθανο-1,2-διϋλοδις(δεκαναμιδίου) 12-υδροξυ-N-[2-[1-οξυδεκυλ)αμιν]αιθυλο]δεκαοκταναμιδίου N,N□-αιθανο-1,2-διϋλοδις(12-υδροξυδεκαοκταναμιδίου)		430-050-2	-	R43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61		
616-128-00-0	N-(2-(1-αλλυλο-4,5-δικυανοϊμιδαζολ-2-υλαζω)-5-(διπροπυλαμινο)φαινυλ)-ακεταμίδιο		417-530-7	123590-00-1	R53	R: 53 S: 61		
616-129-00-6	N,N΄-δις(2,2,6,6-τετραμεθυλο-4-πιπεριδυλ)ισοφθαλαμίδιο		419-710-0	42774-15-2	Xn; R22 Xi; R36	Xn R: 22-36 S: (2-)22-25-26		
616-130-00-1	N-(3-(2-(4,4-διμεθυλο-2,5-διοξο-ιμιδαζολιν-1-υλο)-4,4-διμεθυλο-3-οξο-πεντανοϋλαμινο)-4-μεθοξυ-φαινυλο)-δεκαοκταναμίδιο		421-780-2	150919-56-5	R53	R: 53 S: 61		
616-132-00-2	N-[4-(4-κυανο-2-φουρφουρυλιδενο-2,5-διϋδρο-5-οξο-3-φουρυλο)φαινυλο]βουτανο-1-σουλφοναμίδιο		423-250-6	130016-98-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-133-00-8	N-κυκλοεξυλο-S,S-διοξοβενζο[b]θειοφαινο-2-καρβοξαμίδιο		423-990-1	149118-66-1	Xn; R22 Xi; R41 N; R50-53	Xn; N R: 22-41-50/53 S: (2-)22-26-39-60-61		
616-134-00-3	3,3΄-δις(διοκτυλοξυδιθειοφωσφινοϋλ)-N,N΄-οξυδις(μεθυλένο)διπροπιοναμίδιο		401-820-5	-	R52-53	R: 52/53 S: 61		
616-135-00-9	(3S,4aS,8aS)-2-[(2R,3S)-3-αμινο-2-υδροξυ-4-φαινυλοβουτυλο]-N-(τριτ.		430-230-0	136522-17-3	Xn; R22 R52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)22-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Ορια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	βουτυλο)δεκαϋδροϊσοκινολινο-3-καρβοξαμίδιο							
616-142-00-7	1,3-δις(βινυλοσουλφονυλακεταμιδο) προπάνιο		428-350-3	93629-90-4	Muta.Cat.3; R68 Xi; R41 R 43 R 52-53	Xn R: 41-43-68-52/53 S: (2-)22-26-36/37/39-61		
616-143-00-2	N,N'-διδεκαεξυλο-N,N'-δις(2-υδροξυαιθυλο)προπανοδιαμίδιο		422-560-9	149591-38-8	Xn; Repr. Cat. 3; R62 Xi; R36 R53	Xn R: 62-36-53 S: (2-)26-36/37-61		
617-018-00-5	Μίγμα των: 1-μεθυλο-1-(3-(1-μεθυλο αιθυλο)φαινυλο)-αιθυλο-1-μεθυλο-1-φαινυλο αιθυλο υπεροξειδίου, 63% κατά βάρος, 1-μεθυλο-1-(4-(1-μεθυλο αιθυλο)φαινυλο)-αιθυλο-1-μεθυλο-1-φαινυλο αιθυλο υπεροξειδίου, 31% κατά βάρος		410-840-3	71566-50-2	O; R7 N; R51-53	O; N R: 7-51/53 S: (2-)3/7-14-36/37/39-61		
617-019-00-0	6-φθαλιμιδο-υπεροξυεξανοϊκό οξύ		410-850-8	128275-31-0	O; R7 Xi; R41 N; R50	O; Xi; N R: 7-41-50 S: (2-)3/7-14-26-36/37/39-61		
617-020-00-6	Δις(νεοδεκανοϋλυπεροξείδιο) του 1,3-δι(προπαδι-2,2-υλο)βενζολίου		420-060-5	117663-11-3	R10 O; R7 N; R51-53	O; N R: 7-10-51/53 S: (2-)7-14-36/37/39-47-61		
650-042-00-4	Προϊόν αντιδράσεως: πολυαιθυλενο-πολυαμινο-(C16-C18)-αλκυλαμιδίων με μονοθειο-(C2)-αλκυλο φωσφονικά		417-450-2	-	Xi; R36/38 R43 R52-53	Xi R: 36/38-43-52/53 S: (2-)24-26-37-61		
650-043-00-X	Προϊόν αντιδράσεως: 3,5-δις-τριτ.-βουτυλοσαλικυλικού οξέος και θειικού αργιλίου		420-310-3	-	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)22-56-60-61		
650-044-00-5	μεικτές C14-15 αιθοξυλιωμένες αλκοόλες ευθείας και διακλαδισμένης αλύσου, προϊόν αντιδράσεως με επιχλωρυδρίνη		420-480-9	158570-99-1	Xi; R38 R43 N; R50-53	Xi; N R: 38-43-50/53 S: (2-)24-37-60-61		
650-045-00-0	Προϊόν αντιδράσεως: 1,2,3-προπανοτρικαρβοξυλικού οξέος, 2-υδροξυδιαιθυλεστέρα, 1-προπανόλης και τετρα-καν.-προπανολικού ζιρκονίου		417-110-3	-	F; R11 Xi; R38-41 N; R51-53	F; Xi; N R: 11-38-41-51/53 S: (2-)9-16-26-37/39-61		
650-046-00-6	παράγωγα του δι(τετραμεθυλαμμωνίου)(29H,31H-φθαλοκυανινο-		416-180-2	-	Xn; R22-48/22 N; R51-53	Xn; N R: 22-48/22-51/53 S: (2-)22-36-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	Χημική Ονομασία	Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες	EC No	CAS No	Ταξινόμηση	Επισήμανση	Oρια συγκέντρωσης	Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα
	N29,N30,N31,N32)δισουλφοναμιδο- δισουλφονικού χαλκικού (2-) συμπλόκου							
650-047-00-1	εξαφθοροαντιμονικό διβενζυλοφαινυλοσουλφόνιο		417-760-8	134164-24-2	T; R48/25 Xn; R22 Xi; R41 R43 N; R51-53	T; N R: 22-41-43-48/25-51/53 S: (1/2-)22-26-36/37/39-45-61		
650-048-00-7	Προϊόν αντιδράσεως: βόρακα, υπεροξειδίου του υδρογόνου, οξικού ανυδρίτη και οξικού οξέος		420-070-1	-	O; R7 Xn; R20/21/22 C; R35 N; R50	O; C; N R: 7-20/21/22-35-50 S: (1/2-)3/7-14-26-36/37/39-45-61		
650-049-00-2	όξινο μηλεϊνικό 2-αλκοϋλοξυαιθύλιο, όπου η αλκοϋλομάδα αντιπροσωπεύει (κατά βάρος) 70 έως 85% ακόρεστο δεκαοκτύλιο, 0,5 έως 10% κορεσμένο δεκαοκτύλιο, και 2 έως 18% κορεσμένο δεκαεξύλιο		417-960-5	-	Xi; R38-41 R43 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61		
650-050-00-8	Μείγμα από: 3,5-[1,1-διμεθυλαιθυλο]-4-υδροξυδιύδροκινναμωμικό 1-μεθυλο-3-υδροξυπροπύλιο και/ή 3,5-[1,1-διμεθυλαιθυλο]-4-υδροξυδιύδροκινναμωμικό 3-υδροξυβουτύλιο, ισομερή της δις[3-(3΄-(1,1-διμεθυλαιθυλο)-4΄-υδροξυ-φαινυλο)προπιονικής 1,3-βουτανοδιόλης, ισομερή της δις[3-(3΄,5΄-(1,1-διμεθυλαιθυλο)-4΄-υδροξυφαινυλο)προπιονικής] 1,3-βουτανοδιόλης		423-600-8	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Γ

Index No	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**EC No**	**CAS No**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Ορια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
650-055-00-5	Όξινος φωσφορικός άργυρος, νάτριο, ζιρκόνιο		422-570-3	-	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1Δ

Index No	**Χημική Ονομασία**	**Σημειώσεις Σχετικές με Ουσίες**	**EC No**	**CAS No**	**Ταξινόμηση**	**Επισήμανση**	**Ορια συγκέντρωσης**	**Σημειώσεις Σχετικές με Παρασκευά-σματα**
048-002-00-0	οξείδιο του καδμίου (μη πυροφόρο) [1] οξείδιο του καδμίου (μη πυροφόρο) [2]	E	231-152-8 [1] 215-146-2 [2]	7440-43-9 [1] 1306-19-0 [2]	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62-63 T; R48/23/25 T+; R26 N; R50-53	T+; N R: 45-26-48/23/25-62-63-68-50/53 S: 53-45-60-61		
048-011-00-X	κάδμιο (πυροφόρο)	E	231-152-8	7440-43-9	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62-63 T; R48/23/25 T+; R26 F; R17 N; R50-53	F; T+; N R: 45-17-26-48/23/25-62-63-68-50/53 S: 53-45-7/8-43-60-61		
609-006-00-3	4-νιτροτολουόλιο (p-νιτροτολουόλιο)	C	202-808-0	99-99-0	T; R23/24/25 R33 N; R51/53	T; N R: 23/24/25-33-51/53 S: (1/2-)28-37-45-61		
609-065-00-5	2-νιτροτολουόλιο (o-νιτροτολουόλιο)	E	201-853-3	88-72-2	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 3; R62 Xn; R22 N; R51-53	T; N R: 45-46-22-62-51/53 S: 53-45-61		
612-039-00-6	2-αιθοξυανιλίνη *o*-φαινετιδίνη	C	202-356-4	94-70-2	T; R23/24/25 R33	T R: 23/24/25-33 S: (1/2-)28-36/37-45		
612-207-00-9	4-αιθοξυανιλίνη *p*-φαινετιδίνη		205-855-5	156-43-4	Muta. Cat. 3; R68 Xn; R20/21/22 Xi; R36 R43	Xn R: 20/21/22-36-43-68 S: (2-)36/37-46		

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2Α

Α.21. ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ (ΥΓΡΑ)

1. ΜΕΘΟΔΟΣ

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παρούσα μέθοδος δοκιμής σχεδιάστηκε για τη μέτρηση της εν δυνάμει ικανότητας μιας υγρής ουσίας να αυξήσει την ταχύτητα καύσης ή την ένταση καύσης μιας καύσιμης ουσίας ή να σχηματίσει μίγμα με μια καύσιμη ουσία το οποίο να αναφλέγεται αυθόρμητα, όταν οι δύο ουσίες αναμειχθούν επισταμένως. Βασίζεται στη δοκιμή των ΗΕ για τα οξειδωτικά υγρά (1) και είναι ισοδύναμη με αυτή. Ωστόσο, δεδομένου ότι η παρούσα μέθοδος Α.21 έχει σχεδιαστεί πρωταρχικώς για την εκπλήρωση των απαιτήσεων της οδηγίας 67/548, απαιτείται σύγκριση με μία μόνον ουσία αναφοράς. Μπορεί να είναι αναγκαίο να πραγματοποιηθεί δοκιμή και σύγκριση και με άλλες ουσίες αναφοράς, όταν τα αποτελέσματα της δοκιμής προβλέπεται να χρησιμοποιηθούν και για άλλους σκοπούς([1]).

Η παρούσα δοκιμή δεν χρειάζεται να γίνεται όταν από την εξέταση του συντακτικού τύπου διαπιστώνεται πέραν πάσης λογικής αμφιβολίας ότι η ουσία είναι αδύνατον να αντιδράσει εξωθερμικά με ένα καύσιμο υλικό.

Χρήσιμο είναι, πριν από την εκτέλεση της παρούσας δοκιμής, να έχουμε προκαταρκτικές πληροφορίες για τυχόν εν δυνάμει εκρηκτικές ιδιότητες της ουσίας.

Η παρούσα δοκιμή δεν εφαρμόζεται σε στερεά, αέρια, εκρηκτικές ή λίαν εύφλεκτες ουσίες ή οργανικά υπεροξείδια.

Η παρούσα δοκιμή δεν χρειάζεται να εκτελείται όταν υπάρχουν ήδη διαθέσιμα αποτελέσματα για την υπό δοκιμή ουσία από τη δοκιμή των ΗΕ για τα οξειδωτικά υγρά (1).

1.2 ΟΡΙΣΜΟΙ ΚΑΙ ΜΟΝΑΔΕΣ

Μέσος χρόνος αύξησης της πιέσεως είναι ο μέσος όρος των μετρούμενων χρόνων σε ένα υπό δοκιμή μίγμα για την αύξηση της πίεσης από 690 kPa σε 2070 kPa πάνω από την ατμοσφαιρική πίεση.

1.3 ΟΥΣΙΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Ως ουσία αναφοράς χρησιμοποιείται υδατικό διάλυμα 65% (w/w) νιτρικού οξέος (αναλυτικής καθαρότητας)([2]). Προαιρετικώς, εάν ο εκτελών το πείραμα προβλέπει ότι τα αποτελέσματα της παρούσας δοκιμής μπορεί ενδεχομένως να χρησιμοποιηθούν και για άλλους σκοπούς[1], μπορεί να είναι σκόπιμη η δοκιμασία και έναντι άλλων ουσιών αναφοράς([3]).

1.4 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΗΣ

Το προς δοκιμή υγρό μειγνύεται σε αναλογία 1 προς 1, κατά βάρος, με ίνες κυτταρίνης και εισάγεται σε δοχείο πιέσεως. Εάν κατά τη διάρκεια της μείξεως ή της πλήρωσης επέλθει αυθόρμητη ανάφλεξη, δεν χρειάζεται περαιτέρω δοκιμασία.

Εάν δεν επέλθει αυθόρμητη ανάφλεξη, τότε εκτελείται η πλήρης δοκιμή. Το μίγμα θερμαίνεται σε δοχείο πιέσεως και προσδιορίζεται ο μέσος χρόνος που απαιτείται για να αυξηθεί η πίεση από 690 kPa σε 2070 kPa πάνω από την ατμοσφαιρική. Η τιμή συγκρίνεται με το μέσο χρόνο αύξησης της πίεσης για μίγμα 1:1 της ή των ουσιών αναφοράς και κυτταρίνης.

1.5 ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Σε μια σειρά πέντε δοκιμών για μια ουσία, κανένα αποτέλεσμα δεν θα πρέπει να διαφέρει περισσότερο από 30% από τον αριθμητικό μέσο. Αποτελέσματα που διαφέρουν περισσότερο του 30% από τον μέσον όρο θα πρέπει να απορρίπτονται, η διαδικασία μείξεως και πληρώσεως να βελτιώνεται και η δοκιμασία να επαναλαμβάνεται.

---

[1] Οπως, για παράδειγμα, στα πλαίσια των κανονισμών των ΗΕ για τις μεταφορές.

[2] Το οξύ θα πρέπει να τιτλοδοτείται πριν από τη δοκιμή για να επιβεβαιώνεται η συγκέντρωσή του.

[3] Π.χ.: στην παραπομπή 1 χρησιμοποιείται 50% (w/w) υπερχλωρικό οξύ και 40% (w/w) χλωρικό νάτριο.

1.6 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

1.6.1 **Παρασκευή**

1.6.1.1 *Καύσιμη ουσία*

Ως καύσιμο υλικό χρησιμοποιείται ξηρά, ινώδης κυτταρίνη με μήκος ινών μεταξύ 50 και 250 μm και μέση διάμετρο 25 μm([4]). Ξηραίνεται μέχρι σταθερού βάρους σε στιβάδα πάχους το πολύ 25 mm στους 105 °C για 4 ώρες και φυλάσσεται σε ξηραντήρα, με ξηραντικό, μέχρι να κρυώσει και να χρησιμοποιηθεί. Η περιεκτικότητα σε υγρασία της αποξηραμένης κυτταρίνης θα πρέπει να είναι κάτω του 0,5% επί ξηράς μάζας([5]). Εάν είναι ανάγκη, ο χρόνος ξήρανσης θα πρέπει να παρατείνεται μέχρι να επιτευχθεί το εν λόγω ποσοστό([6]). Καθ' όλη τη δοκιμή πρέπει να χρησιμοποιείται η ίδια παρτίδα κυτταρίνης.

1.6.1.2 *Εξοπλισμός*

1.6.1.2.1 *Δοχείο πιέσεως*

Απαιτείται δοχείο πιέσεως. Το δοχείο είναι χαλύβδινο κυλινδρικό δοχείο πιέσεως με μήκος 89 mm και εξωτερική διάμετρο 60 mm (βλ. εικόνα 1). Εξ απεναντίας στο δοχείο υπάρχουν χαραγμένες δύο έδρες (με αποτέλεσμα τη μείωση της διατομής του δοχείου στα 50 mm) για να διευκολύνεται το πιάσιμο κατά την προσαρμογή του βύσματος πυροδότησης και του βύσματος της οπής εξαέρωσης. Το δοχείο, το οποίο φέρει οπή διαμέτρου 20 mm, είναι αμβλυμμένο εσωτερικώς σε κάθε άκρο μέχρι βάθους 19 mm και σπειροτομημένο ώστε να δέχεται σωλήνα 1" (British Standard Pipe - BSP) ή αναλόγου κατά το μετρικό σύστημα διαμετρήματος. Στην καμπύλη επιφάνεια του δοχείου πιέσεως, σε απόσταση 35 mm από το ένα άκρο και υπό γωνία 90° σε σχέση με τις χαραγμένες έδρες βιδώνεται ένας απαγωγός πιέσεως, ο οποίος έχει τη μορφή πλευρικού βραχίονα. Η εσοχή για την υποδοχή του έχει βάθος 12 mm και είναι σπειροτομημένη ώστε να δέχεται το διαμετρήματος 1/2" BSP (ή ισοδύναμου διαμετρήματος στο μετρικό σύστημα) σπείρωμα του άκρου του πλευρικού βραχίονα. Εάν είναι αναγκαίο, προσαρμόζεται ένα αδρανές στεγανωτικό για διασφάλιση της αεροστεγανότητας. Ο πλευρικός βραχίονας εκτείνεται σε απόσταση 55 mm από το σώμα του δοχείου και φέρει οπή 6 mm. Το άκρο του πλευρικού βραχίονα είναι αμβλυμένο και σπειροτομημένο ώστε να δέχεται μορφοτροπέα πιέσεως τύπου διαφράγματος. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιαδήποτε διάταξη μέτρησης της πιέσεως, υπό την προϋπόθεση ότι δεν επηρεάζεται από τα θερμά αέρια ή από τα προϊόντα αποσύνθεσης και μπορεί να ανταποκριθεί σε ταχύτητες αύξησης της πίεσης 690-2070 kPa μέσα σε 5 ms.

Το απώτερο από τον πλευρικό βραχίονα άκρο του δοχείου πιέσεως κλείνει με ένα βύσμα πυροδότησης εφοδιασμένο με δύο ηλεκτρόδια, το ένα μονωμένο και το άλλο γειωμένο στο σώμα του βύσματος. Το άλλο άκρο του δοχείου πιέσεως σφραγίζεται με ένα διαρρηγνυόμενο δίσκο (πίεση διαρρήξεως περίπου 2200 kPa), ο οποίος κρατιέται στη θέση του με ένα βύσμα συγκράτησης που φέρει οπή 20 mm. Εάν είναι αναγκαίο, για το βύσμα πυροδότησης χρησιμοποιείται και ένα αδρανές στεγανωτικό για να διασφαλίζεται το αεροστεγές του δοχείου. Κατά τη διάρκεια της χρήσης, το όλο σύστημα κρατιέται στη σωστή θέση με έναν υποστάτη (εικόνα 2). Αυτός συνήθως αποτελείται από μια πλάκα από μαλακό χάλυβα διαστάσεων 235 mm x 184 mm x 6 mm, που χρησιμεύει ως βάση, και από ένα ευθύγραμμο στέλεχος μήκους 185 mm τετραγωνικής κοίλης διατομής (S.H.S.) 70 mm x 70 mm x 4 mm.

Στο ένα άκρο του ευθύγραμμου στελέχους S.H.S, από κάθε μία από τις δύο εξ απεναντίας πλευρές, είναι αποκομμένο ένα τμήμα έτσι ώστε να δημιουργείται μια κατασκευή με δύο επίπεδα πλευρικώς σκέλη, πάνω από τα οποία υπάρχει ένα άθικτο κυτιοειδές τμήμα μήκους 86 mm. Τα άκρα των επίπεδων πλευρών είναι κομμένα κατά τρόπον ώστε ο σωλήνας, όταν έχει συγκολληθεί στην επίπεδη βάση, να σχηματίζει γωνία 60° ως προς το οριζόντιο επίπεδο. Σε μια πλευρά του πάνω άκρου της βάσης είναι χαραγμένη μια εγκοπή 22 mm πλάτος x 46 mm βάθος, έτσι ώστε όταν το σύστημα του δοχείου πιέσεως αρχίζει να κατεβαίνει, προηγουμένου του άκρου με το βύσμα πυροδότησης, προς το κυτιοειδές υποστήριγμα, ο πλευρικός βραχίονας να κάθεται στην εγκοπή. Στην κάτω εσωτερική επιφάνεια του κυτιόμορφου τμήματος, υπάρχει συγκολλημένο ένα κομμάτι χάλυβα 30 mm πλάτους και 6 mm πάχους, το οποίο δρα ως διαχωριστικό. Για τη συγκράτηση του δοχείου πιέσεως σταθερά στη θέση του, χρησιμοποιούνται δύο πεταλούδες 7 mm, ευρισκόμενες στην αντίθετη πλευρά. Στις πλευρές που καταλήγουν στη βάση του κυτιοειδούς τμήματος, είναι συγκολημμένες δύο λωρίδες πλάτους 12 mm από χάλυβα πάχους 6 mm, που στηρίζουν το δοχείο πιέσεως από κάτω.

[4] π.χ. σκόνη κυτταρίνης CF 11 για στήλη χρωματογραφίας Whatman, κατάλογος αριθ. 4021 050

[5] Επιβεβαιούμενη με π.χ. τιτλοδότηση Karl-Fisher

[6] Εναλλακτικώς, το εν λόγω ποσοστό υγρασίας μπορεί επίσης να επιτευχθεί με π.χ. θέρμανση στους 105 °C υπό κενό για 24 h

1.6.1.2.2 *Σύστημα ανάφλεξης*

Το σύστημα ανάφλεξης αποτελείται από σύρμα Ni/Cr μήκους 25 cm με διάμετρο 0.6 mm και ειδική αντίσταση 3.85 ohm/m. Το σύρμα είναι περιελιγμένο υπό μορφή πηνίου σε κυλινδρική ράβδο διαμέτρου 5 mm και συνδεδεμένο με τα ηλεκτρόδια του βύσματος πυροδότησης. Το πηνίο θα πρέπει να έχει μια από τις μορφές που εμφαίνονται στην εικόνα 3. Η απόσταση μεταξύ του πυθμένα του δοχείου και της κάτω πλευράς του πηνίου ανάφλεξης θα πρέπει να είναι 20 mm. Εάν δεν υπάρχει δυνατότητα προσαρμογής των ηλεκτροδίων, τα άκρα του σύρματος ανάφλεξης μεταξύ του πηνίου και του πυθμένα του δοχείου θα πρέπει να μονώνονται με κεραμικό περίβλημα. Το σύρμα θερμαίνεται με σταθερή παροχή ρεύματος τουλάχιστον 10 A.

1.6.2 **Διεξαγωγή της δοκιμής([7])**

Η διάταξη, σε πλήρη συναρμολόγηση με τον μορφοτροπέα πιέσεως και το σύστημα θερμάνσεως αλλά χωρίς το διαρρηγνυόμενο δίσκο, στηρίζεται με το άκρο που φέρει το βύσμα πυροδότησης προς τα κάτω. 2.5 g του προς δοκιμή υγρού μειγνύονται με 2.5 g ξηρής κυτταρίνης σε δοχείο ζέσεως χρησιμοποιώντας γυάλινη ράβδο ανάδευσης([8]). Για ασφάλεια, η μείξη θα πρέπει να γίνεται τοποθετώντας ένα προστατευτικό θώρακα μεταξύ χειριστή και μείγματος. Εάν το μείγμα αναφλεγεί κατά τη διάρκεια της μείξης ή της πλήρωσης, δεν χρειάζεται περαιτέρω δοκιμασία. Το μείγμα προστίθεται στο δοχείο πιέσεως σε μικρές ποσότητες, προσέχοντας ώστε το μείγμα να σωρεύεται γύρω από το πηνίο ανάφλεξης και να είναι σε καλή επαφή με αυτό. Είναι σημαντικό το πηνίο να μην παραμορφώνεται κατά τη διάρκεια της συσώρευσης, καθώς κάτι τέτοιο μπορεί να οδηγήσει σε εσφαλμένα αποτελέσματα([9]). Ο διαρρηγνυόμενος δίσκος τοποθετείται στη θέση του και το βύσμα συγκράτησης βιδώνεται σφικτά. Το γεμάτο δοχείο μεταφέρεται στον υποστάτη για πυροδότηση, με το δίσκο από την πάνω πλευρά, ο οποίος υποστάτης θα πρέπει να βρίσκεται μέσα σε κατάλληλο θωρακισμένο αεριοαπαγωγό ή στοιχείο πυροδότησης. Η παροχή ρεύματος συνδέεται με τους εξωτερικούς ακροδέκτες του βύσματος πυροδότησης και εφαρμόζεται ρεύμα 10 A. Το χρονικό διάστημα μεταξύ της έναρξης της μείξεως και της έναρξης παροχής ρεύματος δεν θα πρέπει να υπερβαίνει τα 10 λεπτά.

Το παρεχόμενο από τον μορφοτροπέα πιέσεως σήμα καταγράφεται με κατάλληλο σύστημα, το οποίο έχει τη δυνατότητα εκτίμησης και καταγραφής της λαμβανόμενης εικόνας της πιέσεως συναρτήσει του χρόνου (π.χ. καταγραφέας μεταβατικών καταστάσεων συνδεδεμένος με καταγραφικό χαρτί). Το μίγμα θερμαίνεται μέχρι διαρραγής του δίσκου ή για διάστημα τουλάχιστον 60 s. Εάν ο δίσκος δεν διαρραγεί, το μίγμα θα πρέπει να αφήνεται να ψυχθεί πριν αποσυναρμολογηθεί προσεκτικά η συσκευή, λαμβάνοντας πρόνοια για το ενδεχόμενο να επέλθει αύξηση της πιέσεως. Εκτελούνται πέντε δοκιμές με την υπό δοκιμή ουσία και την ή τις ουσίες αναφοράς. Σημειώνεται ο χρόνος που απαιτείται για την αύξηση της πιέσεως από 690 kPa σε 2070 kPa πάνω από την ατμοσφαιρική. Υπολογίζεται ο μέσος χρόνος αύξησης της πιέσεως.

Σε ορισμένες περιπτώσεις, ουσίες μπορεί να οδηγήσουν σε αύξηση πιέσεως (πολύ υψηλή ή πολύ χαμηλή), προκαλούμενη από χημικές αντιδράσεις μη χαρακτηριστικές των οξειδωτικών ιδιοτήτων της ουσίας. Στις περιπτώσεις αυτέ, μπορεί να είναι αναγκαίο να επαναληφθεί η δοκιμή με μια αδρανή ουσία, π.χ. γη διατόμων (kieselguhr), αντί κυτταρίνης για να διευκρινιστεί το είδος της αντίδρασης.

---

[7] Μείγματα οξειδωτικών με κυτταρίνη πρέπει να αντιμετωπίζονται ως εν δυνάμει εκρηκτικά και ο χειρισμός τους να γίνεται με τη δέουσα προσοχή

[8] Στην πράξη, αυτό μπορεί να γίνεται παρασκευάζοντας μείγμα 1:1 του προς δοκιμή υγρού και κυτταρίνης σε μεγαλύτερη ποσότητα από την απαιτούμενη για τη δοκιμή και μεταφέροντας 5 ± 0.1 g στο δοχείο πιέσεως. Το μίγμα πρέπει να είναι πρόσφατα παρασκευασμένο για κάθε δοκιμή.

[9] Ιδιαίτερα, η επαφή μεταξύ των προσκείμενων σπειρών του πηνίου πρέπει να αποφεύγεται.

2 ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Χρόνοι αύξησης πιέσεως τόσο για την υπό δοκιμή ουσία, όσο και για την ή τις ουσίες αναφοράς.
Χρόνοι αύξησης πιέσεως για τις δοκιμές με αδρανή ουσία, εφόσον γίνουν.

2.1 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Υπολογίζονται οι μέσοι χρόνοι αύξησης πιέσεως τόσο για την υπό δοκιμή, όσο και για την ή τις ουσίες αναφοράς.
Υπολογίζεται ο μέσος χρόνος αύξησης πιέσεως για τις δοκιμές με αδρανή ουσία (εφόσον γίνουν).

Ορισμένα παραδείγματα αποτελεσμάτων εμφαίνονται στον πίνακα 1

Πίνακας 1
Παραδείγματα αποτελεσμάτων [δ)]

Ουσία [γ)]	**Μέσος χρόνος αύξησης πιέσεως για μίγμα 1:1 με κυτταρίνη (ms)**
Διχρωμικό αμμώνιο, κορεσμένο υδατικό διάλυμα	20800
Νιτρικό ασβέστιο, κορεσμένο υδατικό διάλυμα	6700
Νιτρικός σίδηρος III, κορεσμένο υδατικό διάλυμα	4133
Υπερχλωρικό λίθιο, κορεσμένο υδατικό διάλυμα	1686
Υπερχλωρικό μαγνήσιο, κορεσμένο υδατικό διάλυμα	777
Νιτρικό νικέλιο, κορεσμένο υδατικό διάλυμα	6250
Νιτρικό οξύ, 65 %	4767 [α)]
Υπερχλωρικό οξύ, 50 %	121 [α)]
Υπερχλωρικό οξύ, 55 %	59
Νιτρικό κάλιο, 30 % υδατικό διάλυμα	26690
Νιτρικός άργυρος, κορεσμένο υδατικό διάλυμα	- [β)]
Χλωρικό νάτριο, 40 % υδατικό διάλυμα	2555 [α)]
Νιτρικό νάτριο, 45 % υδατικό διάλυμα	4133
Αδρανής ουσία	
Νερό:κυτταρίνη	- [β)]

α) Μέση τιμή από διεργαστηριακές συγκριτικές δοκιμές
β) Μέγιστη πίεση 2070 kPa μη επιτευχθείσα
γ) Τα κορεσμένα διαλύματα θα πρέπει να παρασκευάζονται στους 20 °C
δ) Βλ. παραπομπή (1) για ταξινόμηση βάσει του σχήματος των ΗΕ για τις μεταφορές

3 **ΕΚΘΕΣΗ**

3.1 ΕΚΘΕΣΗ ΔΟΚΙΜΗΣ

Στην έκθεση δοκιμής θα πρέπει να περιλαμβάνονται οι ακόλουθες πληροφορίες:

— η ταυτότητα, η σύσταση, η καθαρότητα, κλπ της υπό δοκιμή ουσίας,
— η συγκέντρωση της υπό δοκιμή ουσίας,
— η διαδικασία ξήρανσης της χρησιμοποιούμενης κυτταρίνης,
— η υγρασία της χρησιμοποιούμενης κυτταρίνης,
— τα αποτελέσματα των μετρήσεων,
— τα αποτελέσματα δοκιμών με αδρανή ουσία, εάν υπάρχουν,
— οι υπολογισθέντες μέσοι χρόνοι αύξησης της πίεσης,
— τυχόν παρεκκλίσεις από την παρούσα μέθοδο και οι λόγοι που τις επέβαλαν
— κάθε πρόσθετη πληροφορία ή παρατήρηση σχετική με την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

3.2 ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ([10])

Τα αποτελέσματα δοκιμής αξιολογούνται με βάση:

a) το εάν το μίγμα της υπό δοκιμή ουσίας και της κυτταρίνης αναφλέγεται αυθόρμητα, και

b) τη σύγκριση του μέσου χρόνου που χρειάζεται για την αύξηση της πιέσεως από 690 kPa σε 2070 kPa με εκείνον της ή των ουσιών αναφοράς.

Οι υγρές ουσίες πρέπει να θεωρούνται ως οξειδωτικές όταν:

a) μίγμα 1:1, κατά βάρος, της ουσίας και της κυτταρίνης αναφλέγεται αυθόρμητα, ή

b) μίγμα 1:1, κατά βάρος, της ουσίας και της κυτταρίνης εμφανίζει μέσο χρόνο αύξησης πιέσεως μικρότερο ή ίσο με το μέσο χρόνο αύξησης πιέσεως μίγματος 1:1, κατά βάρος, υδατικού διαλύματος 65% (w/w) νιτρικού οξέος και κυτταρίνης.

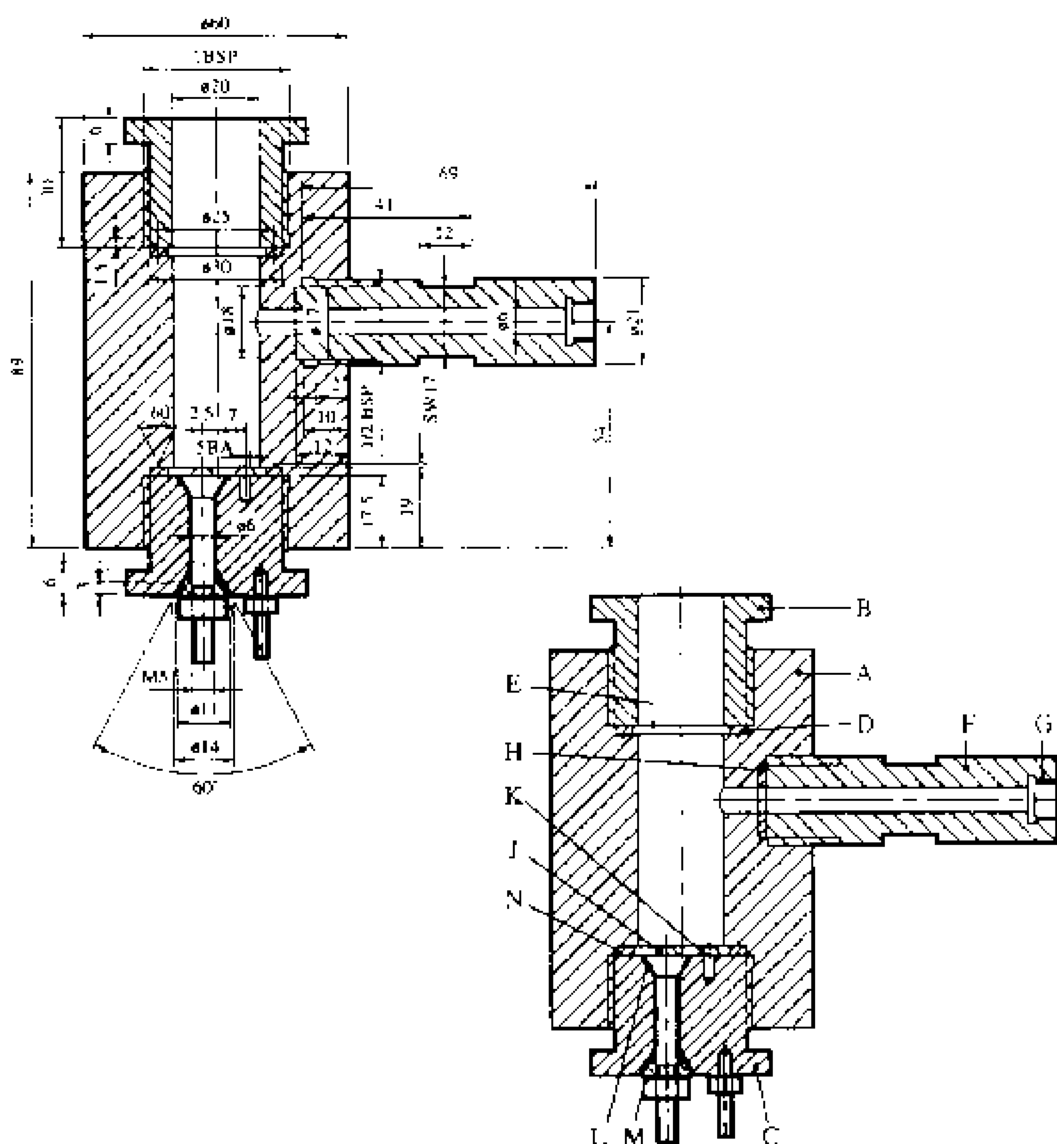
Για την αποφυγή εσφαλμένου θετικού αποτελέσματος, εάν είναι αναγκαίο, κατά την ερμηνεία των αποτελεσμάτων θα πρέπει επίσης να λαμβάνονται υπόψη και τα αποτελέσματα από δοκιμή της ουσίας με αδρανές υλικό.

4 **ΠΑΡΑΠΟΜΠΕΣ**

(1) Recommendations on the Transport of Dangerous Goods, Manual of Tests and Criteria. 3rd revised edition. UN Publication No: ST/SG/AC.10/11/Rev. 3, 1999, page 342. Test O.2: Test for oxidizing liquids.

[10] Βλ. παραπομπή 1 για ερμηνεία των αποτελεσμάτων βάσει των κανονισμών των ΗΕ για τις μεταφορές με χρήση διαφόρων ουσιών αναφοράς.

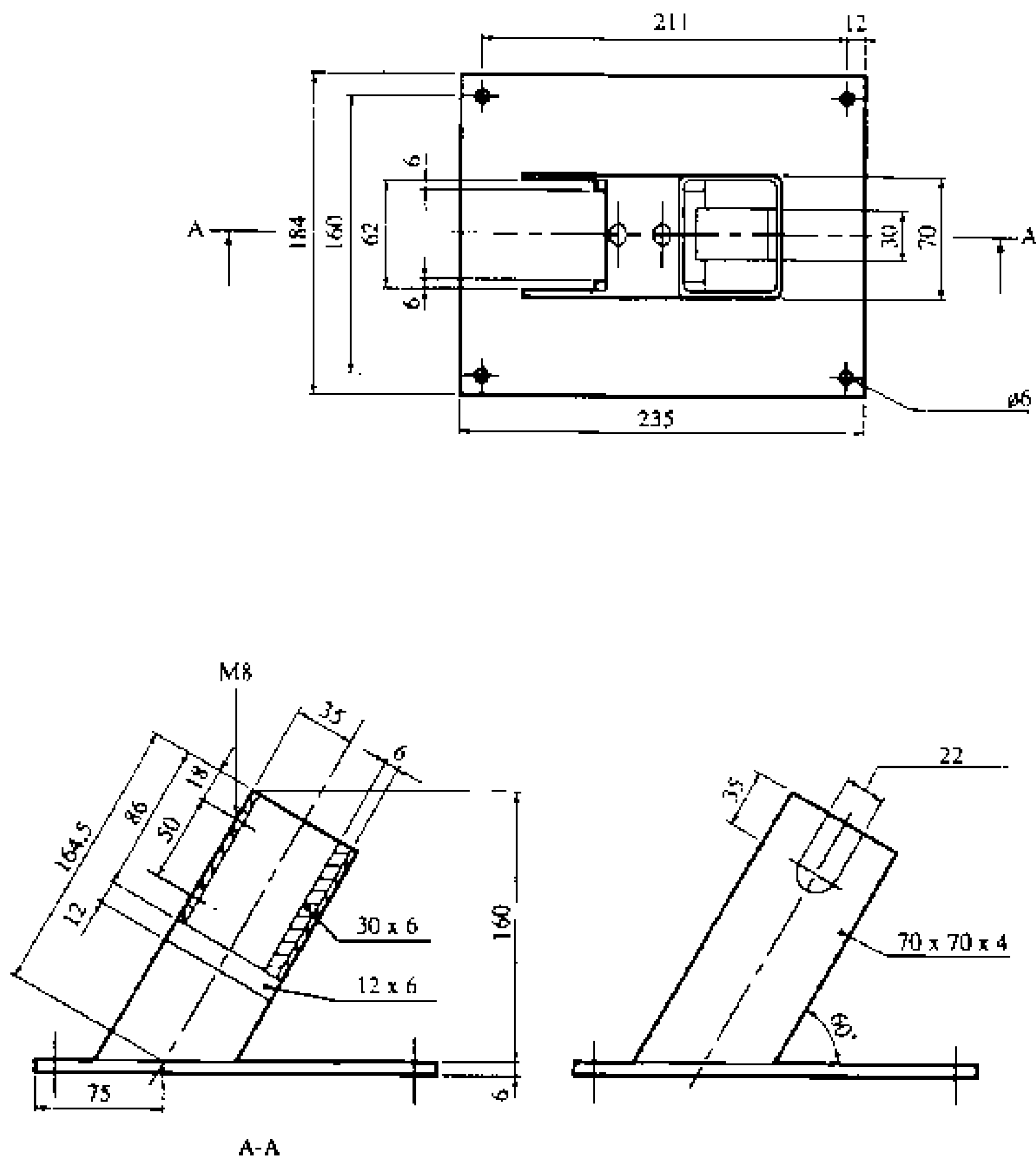
Εικόνα 1
Δοχείο πιέσεως



(A) Σώμα δοχείου πιέσεως
(B)Βύσμα συγκράτησης δίσκου
(C) Βύσμα πυροδότησης
(D) Ροδέλα μαλακού μολύβδου
(E) Διαρρηγνυόμενος δίσκος
(F) Πλευρικός βραχίονας
(G) Κεφαλή μορφοτροπέα πιέσεως
(H) Ροδέλα
(J)Μονωμένο ηλεκτρόδιο
(K) Γειωμένο ηλεκτρόδιο
(L) Μόνωση
(M) Χαλύβδινος κώνος
(N) Χαραγή στρέβλωσης ροδέλας

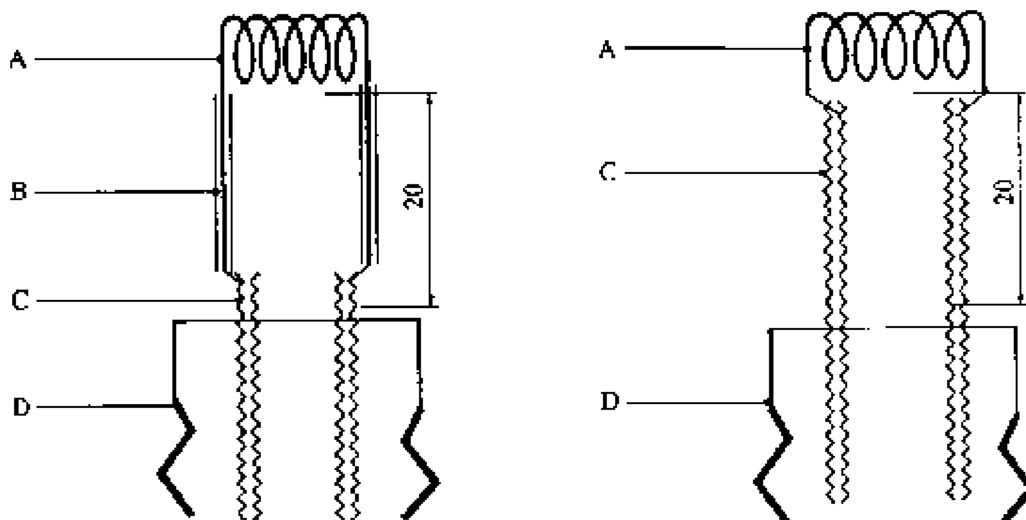
Εικόνα 2

Υποστάτης



Εικόνα 3

Σύστημα ανάφλεξης



(A) Πηνίο ανάφλεξης (B) Μόνωση (C) Ηλεκτρόδια (D) Βύσμα πυροδότησης

Σημείωση: Οποιοδήποτε από αυτά τα δύο συστήματα μπορεί να χρησιμοποιηθεί.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2Β

Β.1 δις. ΟΞΕΙΑ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΑΠΟ ΤΟ ΣΤΟΜΑ – ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΡΟΚΑΘΟΡΙΣΜΕΝΩΝ ΔΟΣΕΩΝ

1. Η ΜΕΘΟΔΟΣ

Η παρούσα μέθοδος δοκιμών είναι ισοδύναμη με την κατευθυντήρια γραμμή δοκιμών TG 420 (2001) του ΟΟΣΑ.

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στις κλασικές μεθόδους εκτίμησης της οξείας τοξικότητας, χρησιμοποιείται ως τελικό σημείο ο θάνατος των ζώων. Το 1984, η Βρετανική Τοξικολογική Εταιρεία πρότεινε μια νέα προσέγγιση των δοκιμών οξείας τοξικότητας, βασισμένη στη χορήγηση σειράς προκαθορισμένων δόσεων (1). Η προσέγγιση αυτή αποτρέπει τη χρήση του θανάτου των ζώων ως τελικού σημείου· αντ' αυτού, στηρίζεται στην παρατήρηση σαφών συμπτωμάτων τοξικότητας σε ένα από μια σειρά προκαθορισμένων επιπέδων δόσης. Μετά τη διεξαγωγή μελετών ελέγχου της αξιοπιστίας *in vivo*, συγκεκριμένα μίας στο Ηνωμένο Βασίλειο (2) και μίας δεύτερης σε διεθνή κλίμακα(3), η διαδικασία εγκρίθηκε ως μέθοδος δοκιμών το 1992. Στη συνέχεια, αξιολογήθηκαν σε σειρά μελετών, με χρήση μαθηματικών μοντέλων, οι στατιστικές ιδιότητες της διαδικασίας σταθερής δόσης (4)(5)(6). Οι μελέτες *in vivo*, σε συνδυασμό με τις μελέτες εκπόνησης μοντέλων έδειξαν ότι η διαδικασία διαθέτει επαναληπτικότητα, απαιτεί μικρότερο αριθμό ζώων και τους προκαλεί λιγότερες ταλαιπωρίες σε σύγκριση με τις κλασικές μεθόδους. Επίσης, παρέχει ανάλογες δυνατότητες ταξινόμησης των ουσιών με τις άλλες μεθόδους δοκιμών οξείας τοξικότητας.

Οδηγίες για την επιλογή της καταλληλότερης μεθόδου δοκιμών σε κάθε δεδομένη περίπτωση παρέχονται από το καθοδηγητικό έγγραφο "Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing" (7), το οποίο περιέχει επίσης συμπληρωματικές πληροφορίες σχετικά με την εφαρμογή και την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της μεθόδου δοκιμών Β.1δις.

Αποτελεί αρχή της μεθόδου η χρήση στην κυρίως μελέτη μόνο μετρίως τοξικών δόσεων και η αποφυγή της χορήγησης δόσεων που προβλέπεται να είναι θανατηφόρες. Επίσης, δεν χρειάζεται να χορηγούνται δόσεις που είναι γνωστό ότι προκαλούν ισχυρούς πόνους και έντονη δυσφορία, εξαιτίας της διαβρωτικής ή πολύ ερεθιστικής δράσης των ουσιών. Τα ετοιμοθάνατα ζώα, καθώς και εκείνα που εμφανίζουν σαφή σημεία πόνου ή έντονης και διαρκούς δυσφορίας, θανατώνονται με ευθανασία και λαμβάνονται υπόψη στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων με τον ίδιο τρόπο όπως τα ζώα που πεθαίνουν κατά τη δοκιμή. Τα κριτήρια για τη λήψη της απόφασης να θανατωθούν ετοιμοθάνατα ή βαρέως πάσχοντα ζώα, καθώς και οι οδηγίες για την αναγνώριση των ενδείξεων προβλέψιμου ή επικείμενου θανάτου αποτελούν το αντικείμενο χωριστού καθοδηγητικού εγγράφου (8).

Η μέθοδος παρέχει στοιχεία για τις επικίνδυνες ιδιότητες των ουσιών και επιτρέπει την ιεράρχηση και την ταξινόμησή τους σύμφωνα με το Παγκόσμιο Εναρμονισμένο Σύστημα Ταξινόμησης των χημικών ουσιών που προκαλούν οξεία τοξικότητα (GHS από τα αρχικά του αγγλικού Globally Harmonised System) (9).

Πριν από τη διεξαγωγή της μελέτης, το εργαστήριο δοκιμών θα πρέπει να λαμβάνει υπόψη όλα τα διαθέσιμα στοιχεία σχετικά με την ελεγχόμενη ουσία., μεταξύ των οποίων την ταυτότητα και τη χημική δομή της, τις φυσικές και χημικές ιδιότητές της, τα αποτελέσματα τυχόν άλλων δοκιμών τοξικότητας της ουσία ς *in vitro* ή *in vivo*; τα τοξικολογικά δεδομένα που αφορούν ουσίες ανάλογης χημικής δομής, καθώς και την ή τις προβλεπόμενες χρήσεις της ουσίας. Οι πληροφορίες αυτές είναι απαραίτητες για να διασφαλίζεται ότι η διεξαγωγή της δοκιμής έχει ουσιαστική σημασία για την προστασία της υγείας του ανθρώπου και βοηθούν στην επιλογή της κατάλληλης αρχικής δόσης.

1.2 ΟΡΙΣΜΟΙ

Οξεία τοξικότητα από το στόμα: οι δυσμενείς επιδράσεις που παρατηρούνται μετά τη χορήγηση από το στόμα μίας δόσης της ουσίας εφάπαξ ή πολλών δόσεων εντός 24ώρου.

Όψιμος θάνατος: η περίπτωση όπου ένα ζώο δεν πεθαίνει ούτε φαίνεται ετοιμοθάνατο εντός 48 ωρών, αλλά πεθαίνει αργότερα στη διάρκεια της περιόδου παρατήρησης, που διαρκεί 14 ημέρες.

Δόση: η χορηγούμενη ποσότητα ελεγχόμενης ουσίας· εκφράζεται σε βάρος ελεγχόμενης ουσίας ανά μονάδα βάρους του πειραματοζώου (π.χ. mg/kg).

Έκδηλη τοξικότητα: γενικός όρος που δηλώνει την εμφάνιση σαφών συμπτωμάτων τοξικότητας μετά τη χορήγηση της ελεγχόμενης ουσίας (βλ. παραδείγματα στη δημοσίευση (3)), ώστε να αναμένεται ότι η αμέσως υψηλότερη προκαθορισμένη δόση θα προκαλέσει είτε ισχυρό πόνο και διαρκή σημεία έντονης δυσφορίας ή κατάσταση ετοιμοθάνατου (τα σχετικά κριτήρια παρατίθενται στο καθοδηγητικό έγγραφο για τα τελικά σημεία ευθανασίας (8)) ή πιθανή θνησιμότητα στα περισσότερα ζώα.

GHS: παγκόσμιο εναρμονισμένο σύστημα ταξινόμησης για τις χημικές ουσίες και τα μίγματά τους. Πρόκειται για κοινή πρωτοβουλία του ΟΟΣΑ (υγεία του ανθρώπου και περιβάλλον), της Επιτροπής Εμπειρογνωμόνων για τις Μεταφορές Επικίνδυνων Εμπορευμάτων του ΟΗΕ (φυσικές και χημικές ιδιότητες) και της Διεθνούς Οργάνωσης Εργασίας (ανακοίνωση κινδύνων), με συντονιστή το Πρόγραμμα Διεθνών Οργανισμών για την ορθή Διαχείριση των Χημικών Προϊόντων (IOMC).

Επικείμενος θάνατος: η περίπτωση όπου αναμένεται κατάσταση ετοιμοθάνατου ή θάνατος πριν από τον επόμενο προγραμματισμένο χρόνο παρατήρησης. Μεταξύ των ενδείξεων επικείμενου θανάτου στα τρωκτικά περιλαμβάνονται οι σπασμοί, η πλάγια θέση, η κατάκλιση και ο τρόμος (για περισσότερες λεπτομέρειες, βλ. καθοδηγητικό έγγραφο για τα τελικά σημεία ευθανασίας (8)).

LD_{50} (διάμεσος θανατηφόρου δόσης): η στατιστικά λαμβανόμενη τιμή εφάπαξ δόσης μιας ουσίας που αναμένεται να προκαλέσει το θάνατο του 50 % των πειραματόζωων, όταν χορηγηθεί από το στόμα. Η τιμή LD_{50} εκφράζεται σε βάρος ελεγχόμενης ουσίας ανά μονάδα βάρους του πειραματοζώου (mg/kg).

Οριακή δόση: μια δόση που αποτελεί το ανώτατο όριο για τη δοκιμή (2000 ή 5000 mg/kg).

Κατάσταση ετοιμοθάνατου: η κατάσταση πολύ κοντά στο θάνατο ή η αδυναμία επιβίωσης ακόμη και μετά από θεραπευτική αγωγή (για περισσότερες λεπτομέρειες, βλ. καθοδηγητικό έγγραφο για τα τελικά σημεία ευθανασίας (8)).

Προβλέψιμος θάνατος: η εμφάνιση κλινικών συμπτωμάτων που αποτελούν ένδειξη μελλοντικού θανάτου σε γνωστό χρόνο πριν από τον προγραμματισμένο τερματισμό του πειράματος, λόγου χάριν η αδυναμία του πειραματοζώου να φθάσει την τροφή ή το νερό (για περισσότερες λεπτομέρειες, βλ. καθοδηγητικό έγγραφο για τα τελικά σημεία ευθανασίας (8)).

1.3 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΩΝ

Σε ομάδες ζώων του ίδιου φύλου χορηγούνται με βαθμιδωτή διαδικασία οι προκαθορισμένες δόσεις 5, 50, 300 και 2000 mg/kg (κατ' εξαίρεση, μπορεί να προστεθεί η προκαθορισμένη δόση 5000 mg/kg, βλ. σημείο 1.6.2). Η αρχική δόση επιλέγεται με βάση τα αποτελέσματα αναγνωριστικής μελέτης ως η δόση εκείνη που αναμένεται να προκαλέσει κάποια συμπτώματα τοξικότητας, όχι όμως σοβαρές τοξικές επιδράσεις ή θνησιμότητα. Τα κλινικά συμπτώματα και οι παθολογικές καταστάσεις που συνοδεύονται από πόνο, ταλαιπωρίες και επικείμενο θάνατο περιγράφονται λεπτομερώς σε χωριστό καθοδηγητικό έγγραφο του ΟΟΣΑ (8). Ανάλογα με την εκδήλωση ή την απουσία συμπτωμάτων τοξικότητας ή θνησιμότητας, είναι δυνατόν να χορηγηθούν σε πρόσθετες ομάδες ζώων υψηλότερες ή χαμηλότερες προκαθορισμένες δόσεις. Η διαδικασία αυτή συνεχίζεται μέχρι να προσδιοριστεί η δόση που προκαλεί έκδηλη τοξικότητα ή το θάνατο όχι περισσότερων του ενός ζώων ή διακόπτεται όταν δεν παρατηρούνται επιδράσεις στο ανώτατο επίπεδο δόσης ή η κατώτατη δόση προκαλεί θανάτους.

1.4 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΩΝ

1.4.1 Επιλογή είδους ζώων

Το προτιμώμενο είδος τρωκτικού είναι ο επίμυς, αλλά μπορούν να χρησιμοποιηθούν και άλλα είδη τρωκτικών. Κατά κανόνα χρησιμοποιούνται θηλυκά ζώα (7), επειδή από τη βιβλιογραφική έρευνα για τις συμβατικές δοκιμές LD_{50} προκύπτει ότι, αν και οι διαφορές ευπάθειας μεταξύ των δύο φύλων είναι συνήθως ελάχιστες, όταν παρατηρούνται διαφορές, τα θηλυκά ζώα είναι κατά κανόνα ελαφρώς πιο ευπαθή (10). Εάν ωστόσο οι γνώσεις σχετικά με τις τοξικολογικές ή τοξικοκινητικές ιδιότητες χημικών ουσιών με ανάλογη χημική δομή συνηγορούν υπέρ του ότι τα αρσενικά ζώα είναι πιθανώς πιο ευπαθή, τότε θα πρέπει να προτιμάται αυτό το φύλο.. Όταν η δοκιμή διεξάγεται σε αρσενικά ζώα, η επιλογή αυτή θα πρέπει να αιτιολογείται επαρκώς.

Πρέπει να χρησιμοποιούνται υγιή νεαρά ενήλικα ζώα που ανήκουν σε φυλές κοινής εργαστηριακής χρήσης. Τα θηλυκά ζώα πρέπει να μην έχουν ποτέ γεννήσει ούτε να εγκυμονούν. Κατά την έναρξη της χορήγησης των δόσεων, η ηλικία κάθε ζώου πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 8 και 12 εβδομάδων και το βάρος του να μην αποκλίνει περισσότερο από ± 20% από το μέσο βάρος των ζώων στα οποία έχει ενδεχομένως χορηγηθεί η ουσία σε προηγούμενο στάδιο.

1.4.2 Συνθήκες στέγασης και διατροφής

Η θερμοκρασία του θαλάμου πειραματόζωων πρέπει να είναι 22ºC (±3ºC). Αν και η σχετική υγρασία πρέπει να είναι τουλάχιστον 30% και, κατά προτίμηση, να μην υπερβαίνει το 70%, εκτός από τις περιόδους καθαρισμού του θαλάμου, εν τούτοις ο στόχος θα πρέπει να είναι μια τιμή 50-60%. Ο φωτισμός πρέπει να είναι τεχνητός, με εναλλαγή φωτός-σκότους ανά 12ωρο. Για τη διατροφή των ζώων μπορούν να χρησιμοποιούνται τα συνήθη εργαστηριακά σιτηρέσια, με απεριόριστη παροχή πόσιμου νερού. Τα ζώα μπορούν να τοποθετούνται ομαδικά σε κλουβιά κατά δόση, αλλά ο αριθμός ζώων σε κάθε κλουβί δεν πρέπει να παρεμποδίζει την ακριβή παρατήρηση του καθενός ζώου.

1.4.3 **Προετοιμασία των ζώων**

Τα ζώα επιλέγονται τυχαία, σημαίνονται με τρόπο που επιτρέπει την αναγνώριση του καθενός και παραμένουν στα κλουβιά τους τουλάχιστον για πέντε ημέρες πριν από την έναρξη της χορήγησης των δόσεων, ώστε να εγκλιματιστούν στις εργαστηριακές συνθήκες.

1.4.4 **Παρασκευή των δόσεων**

Ο χορηγούμενος όγκος της ελεγχόμενης ουσίας πρέπει κατά κανόνα να διατηρείται σταθερός σε όλη τη σειρά των δόσεων της δοκιμής με αλλαγή της συγκέντρωσης του χορηγούμενου παρασκευάσματος Όταν ωστόσο πρόκειται να ελεγχθεί ένα υγρό τελικό προϊόν ή μίγμα, η χρήση της ελεγχόμενης ουσίας χωρίς αραίωση, δηλαδή σε σταθερή συγκέντρωση, μπορεί να είναι πιο ενδεδειγμένη για τη μετέπειτα εκτίμηση των κινδύνων, ενώ αποτελεί και απαίτηση ορισμένων αρμόδιων για τις νομοθετικές ρυθμίσεις Αρχών. Σε κάθε περίπτωση, δεν επιτρέπεται υπέρβαση του μέγιστου όγκου χορηγούμενης δόσης. Ο μέγιστος όγκος υγρού που μπορεί να χορηγηθεί εφάπαξ εξαρτάται από το μέγεθος του πειραματόζωου. Στα τρωκτικά, ο όγκος δεν πρέπει κατά κανόνα να υπερβαίνει το 1ml/100g βάρους σώματος, αλλά στην περίπτωση των υδατικών διαλυμάτων μπορεί να εξετασθεί το ενδεχόμενο χορήγησης 2 ml/100g βάρους σώματος. Όσον αφορά τη μορφή του χορηγούμενου παρασκευάσματος, συνιστάται να χρησιμοποιούνται, κατά το δυνατόν, υδατικά διαλύματα/ εναιωρήματα/γαλακτώματα, με δεύτερα κατά σειρά προτίμησης τα διαλύματα/εναιωρήματα/γαλακτώματα σε έλαιο (π.χ. αραβοσιτέλαιο) και τελευταία τα διαλύματα σε άλλους φορείς. Σε περίπτωση χρήσης άλλου φορέα πλην του νερού, πρέπει να είναι γνωστές οι τοξικολογικές ιδιότητές του. Οι δόσεις πρέπει να παρασκευάζονται λίγο πριν από τη χορήγηση, εκτός εάν η σταθερότητα του παρασκευάσματος στο χρονικό διάστημα εντός του οποίου πρόκειται να χρησιμοποιηθεί είναι γνωστή και έχει κριθεί αποδεκτή.

1.5 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΔΟΚΙΜΗΣ

1.5.1 **Χορήγηση των δόσεων**

Η ελεγχόμενη ουσία χορηγείται εφάπαξ με τη βοήθεια ρινογαστρικού καθετήρα σίτισης ή κατάλληλου σωλήνα διασωλήνωσης. Στη σπάνια περίπτωση όπου η εφάπαξ χορήγηση δεν είναι εφικτή, η δόση μπορεί να χορηγηθεί τμηματικά εντός περιόδου που δεν υπερβαίνει τις 24 ώρες.

Πριν από τη χορήγηση των δόσεων, τα ζώα υποβάλλονται σε νηστεία (π.χ. διακοπή της σίτισης, αλλά όχι της παροχής νερού για όλη την προηγούμενη νύκτα, όταν χρησιμοποιούνται επίμυες, ή για 3-4 ώρες, όταν χρησιμοποιούνται ποντικοί). Μετά την περίοδο νηστείας, τα ζώα ζυγίζονται και τους χορηγείται η ελεγχόμενη ουσία. Η διακοπή της σίτισης μπορεί να συνεχιστεί και μετά τη χορήγηση της ουσίας για 3-4 ώρες, προκειμένου για επίμυες, ή 1-2 ώρες, προκειμένου για ποντικούς. Σε περίπτωση τμηματικής χορήγησης της δόσης εντός ορισμένου χρόνου, μπορεί να χρειαστεί να δοθεί στα ζώα τροφή και νερό, ανάλογα με τη διάρκεια του συγκεκριμένου χρονικού διαστήματος.

1.5.2 **Αναγνωριστική μελέτη**

Σκοπός της αναγνωριστικής μελέτης είναι να επιτρέψει την επιλογή της ενδεδειγμένης αρχικής δόσης για την κυρίως μελέτη. Η ελεγχόμενη ουσία χορηγείται σε μεμονωμένα ζώα σε διαδοχικά στάδια σύμφωνα με τα διαγράμματα ροής του παρατήματος 1. Η αναγνωριστική μελέτη τερματίζεται όταν μπορεί να ληφθεί απόφαση σχετικά με την αρχική δόση της κυρίως μελέτης (ή εάν η κατώτατη προκαθορισμένη δόση προκαλέσει θάνατο).

Η αρχική δόση της αναγνωριστικής μελέτης επιλέγεται μεταξύ των προκαθορισμένων επιπέδων 5, 50, 300 και 2000 mg/kg ως η δόση που αναμένεται να προκαλέσει έκδηλη τοξικότητα, κατά το δυνατόν με βάση δεδομένα από μελέτες *in vivo* και *in vitro* με την ίδια ουσία ή με ουσίες ανάλογης χημικής δομής. Εάν δεν υπάρχουν τέτοια στοιχεία, η αρχική δόση είναι 300 mg/kg.

Τα διαδοχικά στάδια χορήγησης των δόσεων στο εκάστοτε ζώο πρέπει να απέχουν τουλάχιστον 24 ώρες. Όλα τα ζώα πρέπει να παρατηρούνται για 14 ημέρες τουλάχιστον.

Κατ΄ εξαίρεση, και μόνον εφόσον το επιβάλλουν συγκεκριμένες ανάγκες νομοθετικής ρύθμισης, μπορεί να εξεταστεί η χρήση ενός επιπλέον ανώτατου προκαθορισμένου επιπέδου δόσης 5000 mg/kg (βλ. παράρτημα 3). Για λόγους προστασίας των ζώων, η διεξαγωγή δοκιμών σε ζώα με δόσεις της κλίμακας που ορίζει την κατηγορία 5 του GHS (2000-5000 mg/kg) δεν συνιστάται και θα πρέπει να εξετάζεται μόνον εφόσον υπάρχουν μεγάλες πιθανότητες τα αποτελέσματα των δοκιμών αυτών να έχουν άμεση, ουσιαστική σημασία για την προστασία της υγείας των ζώων ή του ανθρώπου ή για την προστασία του περιβάλλοντος.

Σε περίπτωση θανάτου ενός ζώου στο οποίο έχει χορηγηθεί η κατώτατη προκαθορισμένη δόση για την αναγνωριστική μελέτη (5 mg/kg), ο κανόνας είναι να τερματίζεται η μελέτη και η ουσία να κατατάσσεται στην κατηγορία 1 του GHS (όπως φαίνεται στο παράρτημα 1). Εάν ωστόσο απαιτείται επιβεβαίωση της ταξινόμησης, μπορεί να εφαρμοστεί η προαιρετική συμπληρωματική διαδικασία που ακολουθεί. Χορηγούνται 5mg/kg σε ένα δεύτερο ζώο. Εάν αυτό πεθάνει, τότε επιβεβαιώνεται η κατάταξη στην κατηγορία 1 του GHS και η μελέτη τερματίζεται αμέσως. Εάν το δεύτερο ζώο επιζήσει, χορηγούνται 5mg/kg σε τρία επιπλέον ζώα κατ' ανώτατο όριο. Επειδή υπάρχει πλέον μεγάλος κίνδυνος θνησιμότητας, η δόση θα πρέπει να χορηγείται διαδοχικά για να προστατεύονται τα ζώα. Το χρονικό διάστημα μεταξύ των διαδοχικών σταδίων χορήγησης της δόσης πρέπει να είναι επαρκές, ώστε να τεκμαίρεται ότι το προηγούμενο ζώο θα επιζήσει. Σε περίπτωση δεύτερου θανάτου, η ακολουθία χορήγησης της δόσης διακόπτεται αμέσως και δεν υποβάλλονται σε δοκιμή άλλα ζώα. Δεδομένου ότι ο δεύτερος θάνατος (ανεξαρτήτως του αριθμού των ζώων που είχαν υποβληθεί στη δοκιμή κατά το χρόνο τερματισμού) εμπίπτει στην έκβαση Α (2 ή περισσότεροι θάνατοι), εφαρμόζεται ο κανόνας ταξινόμησης του παραρτήματος 2 για την προκαθορισμένη δόση 5 mg/kg (κατάταξη στην κατηγορία 1, όταν διαπιστώνονται 2 ή περισσότεροι θάνατοι, ή στην κατηγορία 2, όταν διαπιστώνεται μόνον 1 θάνατος). Επιπλέον, το παράρτημα 4 παρέχει καθοδήγηση για την ταξινόμηση κατά το σύστημα της ΕΕ μέχρι να εφαρμοστεί το νέο GHS.

1.5.3 **Κυρίως μελέτη**

1.5.3.1 *Αριθμοί ζώων και επίπεδα δόσεων*

Το επόμενο βήμα μετά τη δοκιμή με την αρχική δόση υποδεικνύεται στα διαγράμματα ροής του παραρτήματος 2. Απαιτείται μία από τις παρακάτω τρεις δράσεις: είτε διακοπή της δοκιμής και κατάταξη στην ενδεδειγμένη κλάση κινδύνου είτε δοκιμή με υψηλότερη προκαθορισμένη δόση είτε δοκιμή με χαμηλότερη προκαθορισμένη δόση. Παρόλα αυτά, για λόγους προστασίας των ζώων, οι δόσεις που προκαλούν θανάτους κατά την αναγνωριστική μελέτη δεν χορηγούνται εκ νέου κατά την κυρίως μελέτη (βλ. παράρτημα 2). Η πείρα δείχνει ότι το πιθανότερο αποτέλεσμα της δοκιμής με την αρχική δόση είναι η δυνατότητα ταξινόμησης της ουσίας, χωρίς να χρειάζονται άλλες δοκιμές.

Για κάθε επίπεδο δόσης που ελέγχεται, χρησιμοποιούνται κατά κανόνα πέντε ζώα του ίδιου φύλου. Η ομάδα των πέντε ζώων σχηματίζεται από το ζώο στο οποίο χορηγήθηκε το συγκεκριμένο επίπεδο δόσης κατά την αναγνωριστική μελέτη συν τέσσερα άλλα ζώα (εκτός εάν – σπάνια περίπτωση – ένα επίπεδο δόσης της κυρίως μελέτης δεν χορηγήθηκε στο πλαίσιο της αναγνωριστικής.).

Το χρονικό διάστημα μεταξύ των δόσεων καθορίζεται ανάλογα με το χρόνο εκδήλωσης, τη διάρκεια και τη σοβαρότητα των συμπτωμάτων τοξικότητας. Η χορήγηση της επόμενης δόσης θα πρέπει να καθυστερεί μέχρις ότου είναι βέβαιο ότι τα ζώα που έλαβαν την προηγούμενη θα επιζήσουν. Συνιστάται να μεσολαβούν μεταξύ των δόσεων 3 ή 4 ημέρες, εάν χρειάζεται, ώστε να είναι δυνατόν να διαπιστωθούν οι όψιμες τοξικές επιδράσεις. Το χρονικό διάστημα μεταξύ των δόσεων μπορεί να αναπροσαρμόζεται ανάλογα με τις ανάγκες, λόγου χάριν στις περιπτώσεις αβέβαιης απόκρισης.

Όταν εξετάζεται η χρήση των 5000 mg/kg ως ανώτατης προκαθορισμένης δόσης, πρέπει να εφαρμόζεται η διαδικασία που περιγράφεται στο παράρτημα 3 (βλ. επίσης σημείο 1.6.2).

1.5.3.2 *Οριακή δοκιμή*

Η οριακή δοκιμή χρησιμοποιείται κυρίως στις περιπτώσεις όπου ο ερευνητής έχει στη διάθεσή του στοιχεία, από τα οποία προκύπτει ότι η ελεγχόμενη ουσία μάλλον δεν είναι τοξική, δηλαδή ότι έχει τοξικές επιδράσεις μόνον εάν ληφθεί σε δόσεις μεγαλύτερες από τις οριακές τιμές που προβλέπονται στις νομοθετικές ρυθμίσεις. Στοιχεία σχετικά με την τοξικότητα της ελεγχόμενης ουσίας είναι δυνατόν να συναχθούν από τα αποτελέσματα δοκιμών που έχουν διεξαχθεί με ενώσεις, μίγματα ή προϊόντα ανάλογης χημικής δομής, λαμβάνοντας υπόψη την ταυτότητα και την εκατοστιαία αναλογία των σημαντικών από τοξικολογική άποψη συστατικών. Στις περιπτώσεις όπου δεν υπάρχουν καθόλου ή υπάρχουν ελάχιστα στοιχεία για την τοξικότητα της ελεγχόμενης ουσίας ή εάν η τελευταία αναμένεται να είναι τοξική, πρέπει να διεξάγεται η κυρίως δοκιμή.

Μία αναγνωριστική μελέτη με αρχική δόση 2000 mg/kg (ή κατ' εξαίρεση 5000 mg/kg), ακολουθούμενη από τη χορήγηση της ίδιας δόσης σε τέσσερα επιπλέον ζώα , με εφαρμογή της συνήθους διαδικασίας, συνιστά οριακή δοκιμή για τους σκοπούς της παρούσας κατευθυντήριας γραμμής.

1.6 ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

Τα ζώα εξετάζονται το καθένα χωριστά τουλάχιστον μία φορά εντός των πρώτων 30 λεπτών από τη χορήγηση της ουσίας και τακτικά στη διάρκεια του πρώτου 24ώρου, με ιδιαίτερη προσοχή στις πρώτες 4 ώρες. Στη συνέχεια, εξετάζονται καθημερινά για 14 ημέρες συνολικά, εκτός εάν χρειαστεί να αποσυρθούν από τη μελέτη και να θανατωθούν με ευθανασία για να μην υποφέρουν ή εάν βρεθούν νεκρά. Η διάρκεια της περιόδου παρατήρησης δεν πρέπει πάντως να είναι αυστηρά καθορισμένη, αλλά να συναρτάται με τις τοξικές αντιδράσεις, το χρόνο εκδήλωσής τους και το χρόνο ανάρρωσης· συνεπώς, μπορεί να παρατείνεται, εφόσον κρίνεται απαραίτητο. Ο χρόνος εμφάνισης και εξαφάνισης των συμπτωμάτων τοξικότητας έχει μεγάλη σημασία, ιδίως στις περιπτώσεις όπου αυτά τείνουν να εκδηλώνονται με καθυστέρηση (11). Όλες οι παρατηρήσεις καταγράφονται συστηματικά σε χωριστό αρχείο για κάθε ζώο.

Εάν τα ζώα εξακολουθούν να παρουσιάζουν συμπτώματα τοξικότητας, απαιτούνται συμπληρωματικές παρατηρήσεις, μεταξύ των οποίων αλλαγές στο δέρμα και στο τρίχωμα, στους οφθαλμούς και στους βλεννογόνους, επίσης στη λειτουργία του αναπνευστικού και του κυκλοφοριακού συστήματος, του Κ.Ν.Σ και του αυτόνομου, καθώς και στη σωματική κινητικότητα και τη συμπεριφορά. Η προσοχή πρέπει να εστιάζεται στην παρατήρηση των σημείων τρόμου, σπασμών, σιελόρροιας, διάρροιας, υπνηλίας, λήθαργου και κώματος. Πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι γενικές αρχές και τα κριτήρια που συνοψίζονται στο καθοδηγητικό έγγραφο για τα τελικά σημεία ευθανασίας (8). Τα ετοιμοθάνατα ζώα και όσα εμφανίζουν ισχυρούς πόνους ή διαρκή σημεία έντονης δυσφορίας θα πρέπει να θανατώνονται με ευθανασία. Ο χρόνος θανάτου των ζώων που θανατώνονται για να μην υποφέρουν ή βρίσκονται νεκρά θα πρέπει να σημειώνεται με τη μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια.

1.6.1 **Βάρος σώματος**

Το βάρος κάθε ζώου πρέπει να μετριέται λίγο πριν από τη χορήγηση της ελεγχόμενης ουσίας και, μετά, τουλάχιστον ανά εβδομάδα. Πρέπει να υπολογίζονται οι αλλαγές βάρους και να καταγράφονται. Στο τέλος της δοκιμής, τα ζώα που έχουν επιζήσει ζυγίζονται και έπειτα θανατώνονται με ευθανασία·.

1.6.2 **Παθολογία**

Σε όλα τα ζώα της δοκιμής (συμπεριλαμβανομένων εκείνων που πεθαίνουν στη διάρκεια της μελέτης ή αποσύρονται από τη μελέτη για να μην υποφέρουν τα ζώα) πρέπει να διενεργείται νεκροψία-νεκροτομία. Για κάθε ζώο, πρέπει να καταγράφονται όλες οι μακροσκοπικές παθολογικές αλλοιώσεις. Στα ζώα που επιζούν 24 ή περισσότερες ώρες μετά τη χορήγηση της πρώτης δόσης, μπορεί επιπλέον να πραγματοποιείται μικροσκοπική εξέταση των οργάνων που εμφανίζουν μακροσκοπικώς παθολογικές αλλοιώσεις, καθώς από την εξέταση αυτή ενδέχεται να προκύψουν χρήσιμα στοιχεία.

2 **ΔΕΔΟΜΕΝΑ**

Πρέπει να παρέχονται τα δεδομένα για κάθε ζώο χωριστά.. Επιπλέον, το σύνολο των δεδομένων πρέπει να συνοψίζεται σε πίνακα, όπου θα εμφαίνονται, για κάθε ομάδα της δοκιμής, ο αριθμός ζώων που χρησιμοποιήθηκαν, ο αριθμός ζώων που παρουσίασαν συμπτώματα τοξικότητας, ο αριθμός ζώων που βρέθηκαν νεκρά στη διάρκεια της δοκιμής ή θανατώθηκαν για να μην υποφέρουν, ο χρόνος θανάτου κάθε ζώου, περιγραφή και εξέλιξη των τοξικών επιδράσεων και κατά πόσον ήταν ανατάξιμες, καθώς και τα ευρήματα από τη νεκροψία.

3 **ΈΚΘΕΣΗ**

3.1 **Έκθεση δοκιμής**

Η έκθεση δοκιμής θα πρέπει να περιλαμβάνει τα ακόλουθα στοιχεία, κατά περίπτωση:

Ελεγχόμενη ουσία:

— φυσική κατάσταση, καθαρότητα και, εφόσον έχει σημασία, φυσικές και χημικές ιδιότητες (συμπεριλαμβανομένης της ισομερείωσης)·
— στοιχεία ταυτότητας, μεταξύ των οποίων τον αριθμό CAS.

Φορέας (κατά περίπτωση):

— αιτιολόγηση της επιλογής άλλου φορέα εκτός από νερό.

Πειραματόζωα:

— είδος/φυλή που χρησιμοποιήθηκε·
— μικροβιολογική κατάσταση των ζώων, εφόσον είναι γνωστή·
— αριθμό, ηλικία και φύλο των ζώων (όπου συμπεριλαμβάνεται, κατά περίπτωση, αιτιολόγηση της χρήσης αρσενικών αντί θηλυκών ζώων)·
— προέλευση των ζώων, συνθήκες στέγασης, σιτηρέσιο κλπ..

Συνθήκες δοκιμής:

— λεπτομέρειες για το παρασκεύασμα της ελεγχόμενης ουσίας, συμπεριλαμβανομένης της φυσικής κατάστασης στην οποία χορηγήθηκε·
— λεπτομέρειες για τη χορήγηση των δόσεων, συμπεριλαμβανομένων των όγκων τους και του χρόνου χορήγησης·
— λεπτομέρειες για την ποιότητα της τροφής και του νερού (μεταξύ άλλων, τύπος/προέλευση του σιτηρεσίου, προέλευση του νερού)·
— αιτιολόγηση της επιλογής της αρχικής δόσης.

Αποτελέσματα:

— πίνακα με τα δεδομένα απόκρισης και τα επίπεδα δόσης για κάθε ζώο (δηλ. ζώα που παρουσίασαν συμπτώματα τοξικότητας, συμπεριλαμβανομένης της θνησιμότητας, φύση, σοβαρότητα και διάρκεια των επιδράσεων)·
— πίνακα με τα βάρη των ζώων και τις μεταβολές τους·
— για κάθε ζώο, βάρος την ημέρα χορήγησης της δόσης, κατόπιν ανά εβδομάδα και, τέλος, κατά το χρόνο θανάτου ή θανάτωσης·
— ημερομηνία και ώρα θανάτου, εάν επήλθε νωρίτερα από την προγραμματισμένη θανάτωση·
— για κάθε ζώο, το χρόνο εκδήλωσης και την εξέλιξη των συμπτωμάτων τοξικότητας, καθώς και το κατά πόσον αυτά ήταν ανατάξιμα·
— για κάθε ζώο, ευρήματα από τη νεκροψία και την ιστολογική εξέταση, εφόσον υπάρχουν.

Συζήτηση και ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Συμπεράσματα.

4 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

(1) British Toxicology Society Working Party on Toxicity (1984). Special report: a new approach to the classification of substances and preparations on the basis of their acute toxicity. Human Toxicol., 3, 85-92.

(2) Van den Heuvel, M.J., Dayan, A.D. and Shillaker, R.O. (1987). Evaluation of the BTS approach to the testing of substances and preparations for their acute toxicity. Human Toxicol., 6, 279-291.

(3) Van den Heuvel, M.J., Clark, D.G., Fielder, R.J., Koundakjian, P.P., Oliver, G.J.A., Pelling, D., Tomlinson, N.J. and Walker, A.P. (1990). The international validation of a fixed-dose procedure as an alternative to the classical LD_{50} test. Fd. Chem. Toxicol. 28, 469-482.

(4) Whitehead, A. and Curnow, R.N. (1992). Statistical evaluation of the fixed-dose procedure. Fd. Chem. Toxicol., 30, 313-324.

(5) Stallard, N. and Whitehead, A. (1995). Reducing numbers in the fixed-dose procedure. Human Exptl. Toxicol. 14, 315-323. Human Exptl. Toxicol.

(6) Stallard, N., Whitehead, A. and Ridgeway, P. (2002). Statistical evaluation of the revised fixed dose procedure.-Hum. Exp. Toxicol., 21, 183 -196.

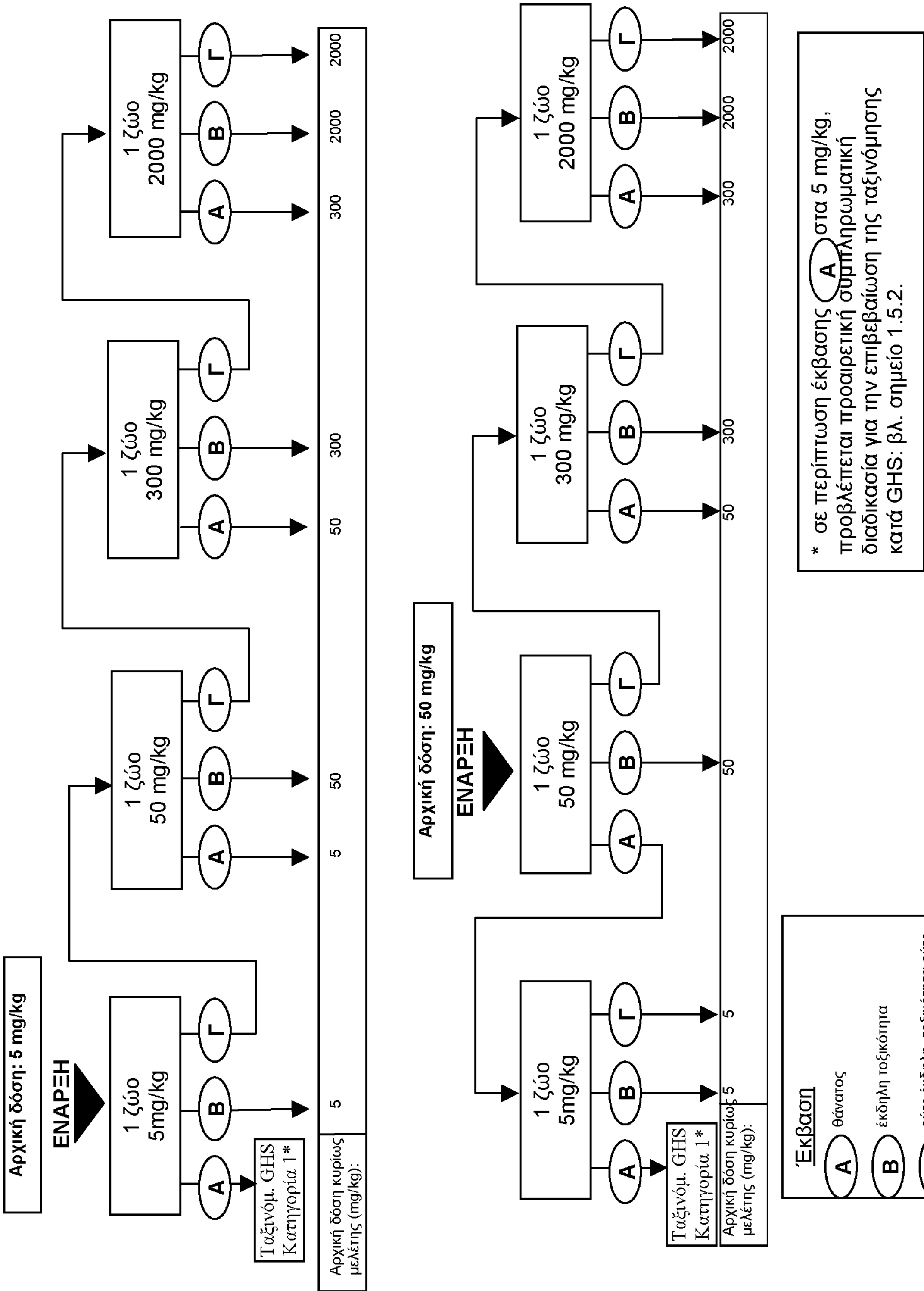
(7) ΟΟΣΑ (2001). Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment N. 24. Paris

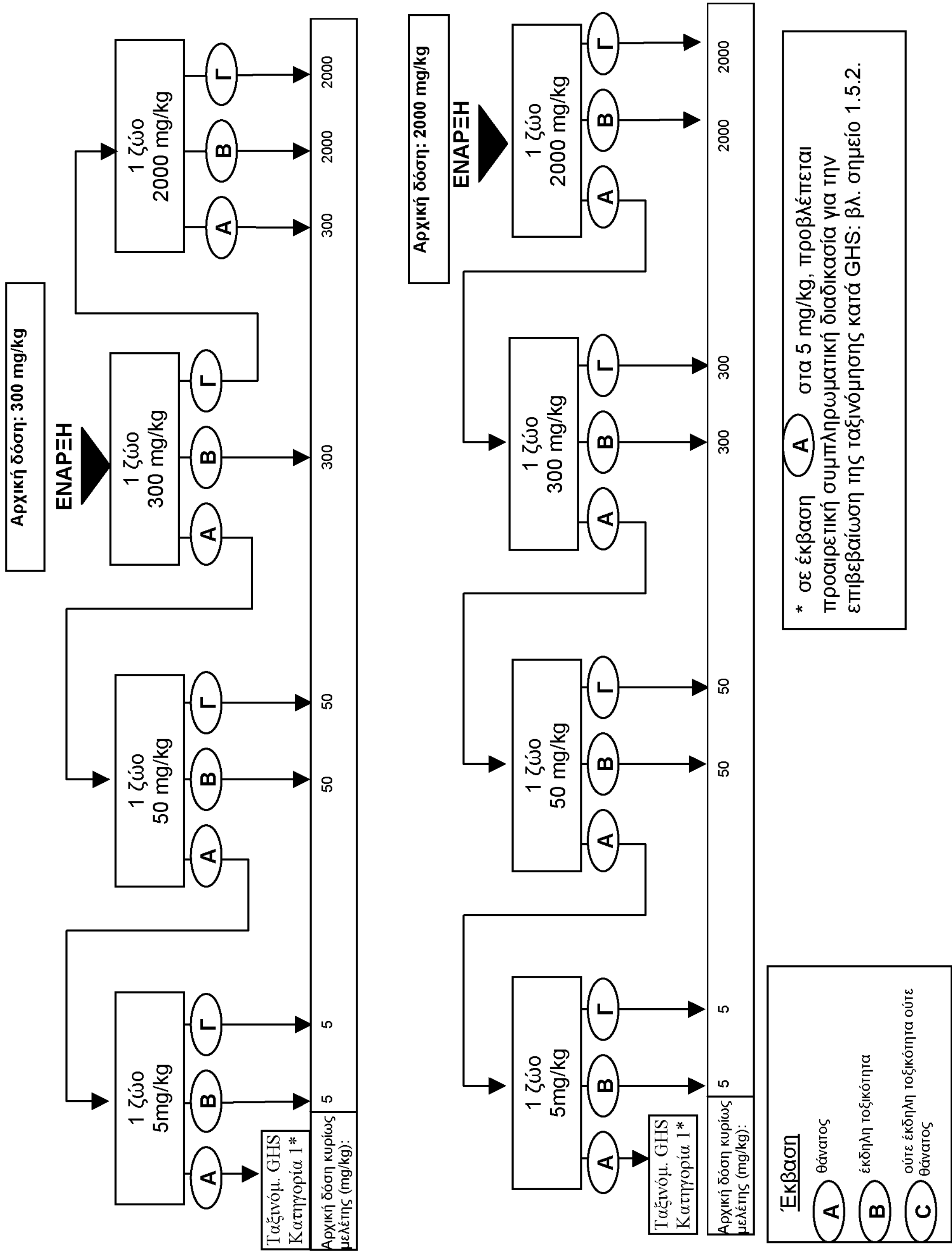
(8) ΟΟΣΑ (2000). Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assesment N. 19.

(9) ΟΟΣΑ (1998) Εναρμονισμένο Ολοκληρωμένο Σύστημα Ταξινόμησης Κινδύνων για τις Επιδράσεις των Χημικών Ουσιών στην Υγεία του ανθρώπου και στο Περιβάλλον, το οποίο εγκρίθηκε από την 28η κοινή συνεδρίαση της επιτροπής χημικών προϊόντων και της ομάδας εργασίας για τα χημικά προϊόντα, το Νοέμβριο του 1998, Μέρος 2, σ. 11 [http://webnet1.oecd.org/oecd/pages/home/displaygeneral/0,3380,EN-documents-521-14-no-24-no-0,FF.html].

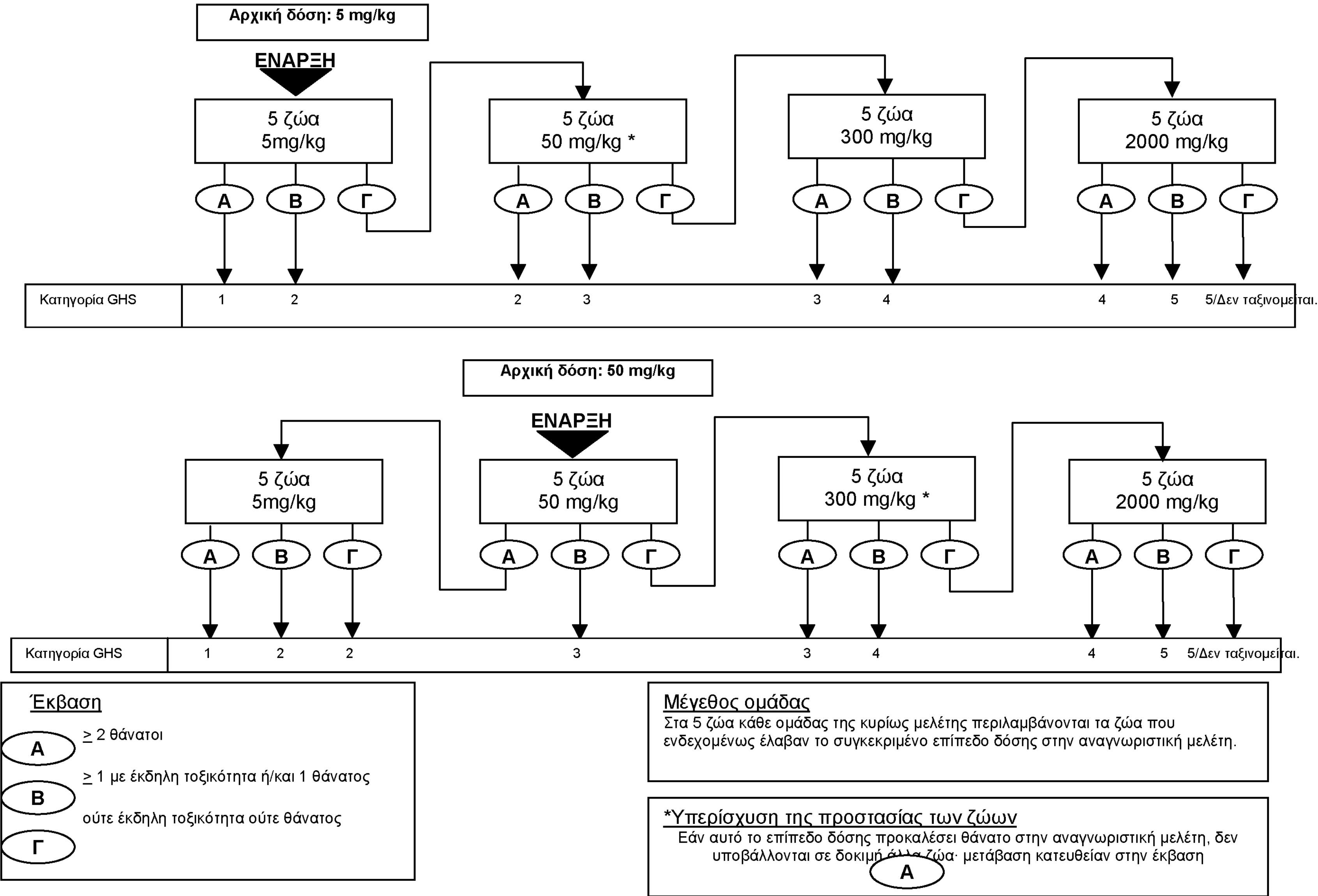
(10) Lipnick, R.L., Cotruvo, J.A., Hill, R.N., Bruce, R.D., Stitzel, K.A., Walker, A.P., Chu, I., Goddard, M., Segal, L., Springer, J.A. and Myers, R.C. (1995). Comparison of the Up-and-Down, Conventional LD_{50}, and Fixed-Dose Acute Toxicity Procedures. Fd. Chem. Toxicol. 33, 223-231.

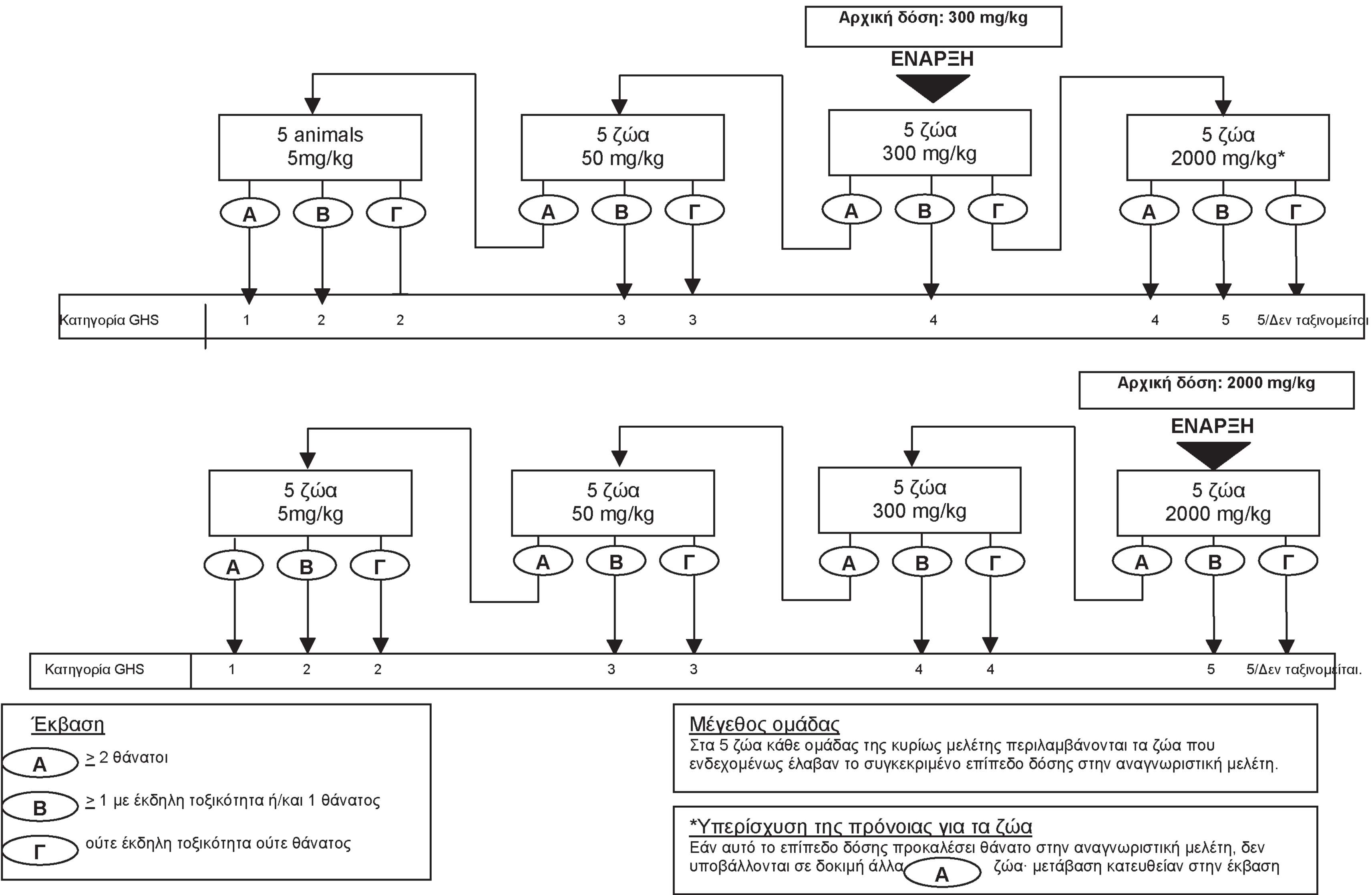
(11) Chan P.K and A.W. Hayes (1994) Chapter 16 Acute Toxicity and Eye Irritation . In: Principles and Methods of Toxicology . 3 rd Edition. A.W. Hayes , Editor. Raven Press, Ltd. New York, USA.


ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1: ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΡΟΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ
Αρχική δόση: 5 mg/kg
ΕΝΑΡΞΗ
1 ζώο 5mg/kg
1 ζώο 50 mg/kg
1 ζώο 300 mg/kg
1 ζώο 2000 mg/kg
Α
Β
Γ
Ταξινόμ. GHS Κατηγορία 1*
Αρχική δόση κυρίως μελέτης (mg/kg):
5
5
50
50
300
300
2000
2000
Αρχική δόση: 50 mg/kg
ΕΝΑΡΞΗ
Έκβαση
Α θάνατος
Β έκδηλη τοξικότητα
Γ ούτε έκδηλη τοξικότητα ούτε θάνατος
* σε περίπτωση έκβασης Α στα 5 mg/kg, προβλέπεται προαιρετική συμπληρωματική διαδικασία για την επιβεβαίωση της ταξινόμησης κατά GHS: βλ. σημείο 1.5.2.


Αρχική δόση: 300 mg/kg
ΕΝΑΡΞΗ
1 ζώο 5mg/kg
1 ζώο 50 mg/kg
1 ζώο 300 mg/kg
1 ζώο 2000 mg/kg
Α
Β
Γ
Ταξινόμ. GHS Κατηγορία 1*
Αρχική δόση κυρίως μελέτης (mg/kg):
5 5 50 50 300 300 2000 2000
Αρχική δόση: 2000 mg/kg
ΕΝΑΡΞΗ
1 ζώο 5mg/kg
1 ζώο 50 mg/kg
1 ζώο 300 mg/kg
1 ζώο 2000 mg/kg
Ταξινόμ. GHS Κατηγορία 1*
Αρχική δόση κυρίως μελέτης (mg/kg):
5 5 50 50 300 300 2000 2000
Έκβαση
A θάνατος
B έκδηλη τοξικότητα
C ούτε έκδηλη τοξικότητα ούτε θάνατος
* σε έκβαση A στα 5 mg/kg, προβλέπεται προαιρετική συμπληρωματική διαδικασία για την επιβεβαίωση της ταξινόμησης κατά GHS: βλ. σημείο 1.5.2.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2: ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΡΟΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΥΡΙΩΣ ΜΕΛΕΤΗ




Αρχική δόση: 300 mg/kg
ΕΝΑΡΞΗ
5 animals
5mg/kg
5 ζώα
50 mg/kg
5 ζώα
300 mg/kg
5 ζώα
2000 mg/kg*
Α
Β
Γ
Κατηγορία GHS
1
2
2
3
3
4
4
5
5/Δεν ταξινομείται
Αρχική δόση: 2000 mg/kg
ΕΝΑΡΞΗ
5 ζώα
5mg/kg
5 ζώα
50 mg/kg
5 ζώα
300 mg/kg
5 ζώα
2000 mg/kg
Κατηγορία GHS
1
2
2
3
3
4
4
5
5/Δεν ταξινομείται.
Έκβαση
Α ≥ 2 θάνατοι
Β ≥ 1 με έκδηλη τοξικότητα ή/και 1 θάνατος
Γ ούτε έκδηλη τοξικότητα ούτε θάνατος
Μέγεθος ομάδας
Στα 5 ζώα κάθε ομάδας της κυρίως μελέτης περιλαμβάνονται τα ζώα που ενδεχομένως έλαβαν το συγκεκριμένο επίπεδο δόσης στην αναγνωριστική μελέτη.
*Υπερίσχυση της πρόνοιας για τα ζώα
Εάν αυτό το επίπεδο δόσης προκαλέσει θάνατο στην αναγνωριστική μελέτη, δεν υποβάλλονται σε δοκιμή άλλα ζώα· μετάβαση κατευθείαν στην έκβαση Α

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 3

ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΤΩΝ ΟΠΟΙΩΝ ΟΙ ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ LD_{50} ΥΠΕΡΒΑΙΝΟΥΝ ΤΑ 2000 MG/KG, ΧΩΡΙΣ ΝΑ ΧΡΕΙΑΖΕΤΑΙ ΝΑ ΔΙΕΞΑΧΘΟΥΝ ΔΟΚΙΜΕΣ

Σκοπός των κριτηρίων ταξινόμησης στην κατηγορία κινδύνου 5 είναι να επιτρέψουν την ταυτοποίηση ελεγχόμενων ουσιών που ενέχουν σχετικά χαμηλό κίνδυνο οξείας τοξικότητας, αλλά σε ορισμένες περιστάσεις ενδέχεται να είναι επικίνδυνες για ευπαθείς ομάδες του πληθυσμού. Η τιμή LD_{50} από το στόμα ή το δέρμα για τις ουσίες αυτές αναμένεται να περιλαμβάνεται στη περιοχή τιμών 2000-5000 mg/kg ή ισοδύναμων δόσεων, προκειμένου για άλλες οδούς έκθεσης. Μια ελεγχόμενη ουσία θα μπορούσε να ταξινομηθεί στην κατηγορία κινδύνου που ορίζεται από: το εύρος 2000mg/kg $< LD_{50} <$ 5000mg/kg (κατηγορία 5 κατά GHS) στις ακόλουθες περιπτώσεις:

α) εάν κάποιο από τα σχήματα δοκιμών του παραρτήματος 2 κατευθύνει προς την κατηγορία αυτή με βάση τη συχνότητα θανάτων·

β) εάν υπάρχουν ήδη αξιόπιστα στοιχεία που δείχνουν ότι η τιμή LD_{50} περιλαμβάνεται στη περιοχή τιμών της κατηγορίας 5 ή εάν τα αποτελέσματα άλλων μελετών σε ζώα ή παρατηρήσεις τοξικών επιδράσεων στον άνθρωπο δημιουργούν ανησυχίες για οξείες βλάβες στην υγεία του ανθρώπου·

γ) εάν μετά από παρέκταση δεδομένων, υπολογισμούς κατά προσέγγιση ή μετρήσεις δεν δικαιολογείται η ταξινόμηση σε ανώτερη κατηγορία κινδύνου και

— υπάρχουν αξιόπιστα στοιχεία που δείχνουν σοβαρές τοξικές επιδράσεις στον άνθρωπο ή

— έχει παρατηρηθεί θνησιμότητα σε δοκιμές από το στόμα με επίπεδα δόσεων έως και της κατηγορίας 4 ή

— οι απόψεις των ειδικών επιβεβαιώνουν σοβαρά κλινικά συμπτώματα τοξικότητας — εκτός από διάρροια, ανόρθωση του τριχώματος και ταλαιπωρημένη εμφάνιση — που έχουν παρατηρηθεί σε δοκιμές με επίπεδα δόσεων έως και της κατηγορίας 4 ή

— οι απόψεις των ειδικών επιβεβαιώνουν αξιόπιστες ενδείξεις πιθανής σοβαρής, οξείας τοξικής επίδρασης, οι οποίες έχουν προκύψει από άλλες μελέτες σε ζώα.

ΔΙΕΞΑΓΩΓΗ ΔΟΚΙΜΩΝ ΜΕ ΔΟΣΕΙΣ ΑΝΩ ΤΩΝ 2000 MG/KG

Κατ΄ εξαίρεση και μόνον εφόσον το επιβάλλουν συγκεκριμένες ανάγκες κανονιστικής ρύθμισης, μπορεί να εξεταστεί η χρήση ενός επιπλέον ανώτατου προκαθορισμένου επιπέδου δόσης 5000 mg/kg. Για λόγους προστασίας των ζώων, η διεξαγωγή δοκιμών με δόση 5000 mg/kg δεν συνιστάται και θα πρέπει να εξετάζεται μόνον εφόσον υπάρχουν μεγάλες πιθανότητες τα αποτελέσματα των δοκιμών αυτών να έχουν άμεση, ουσιαστική σημασία για την προστασία της υγείας των ζώων ή του ανθρώπου (9).

Αναγνωριστική μελέτη

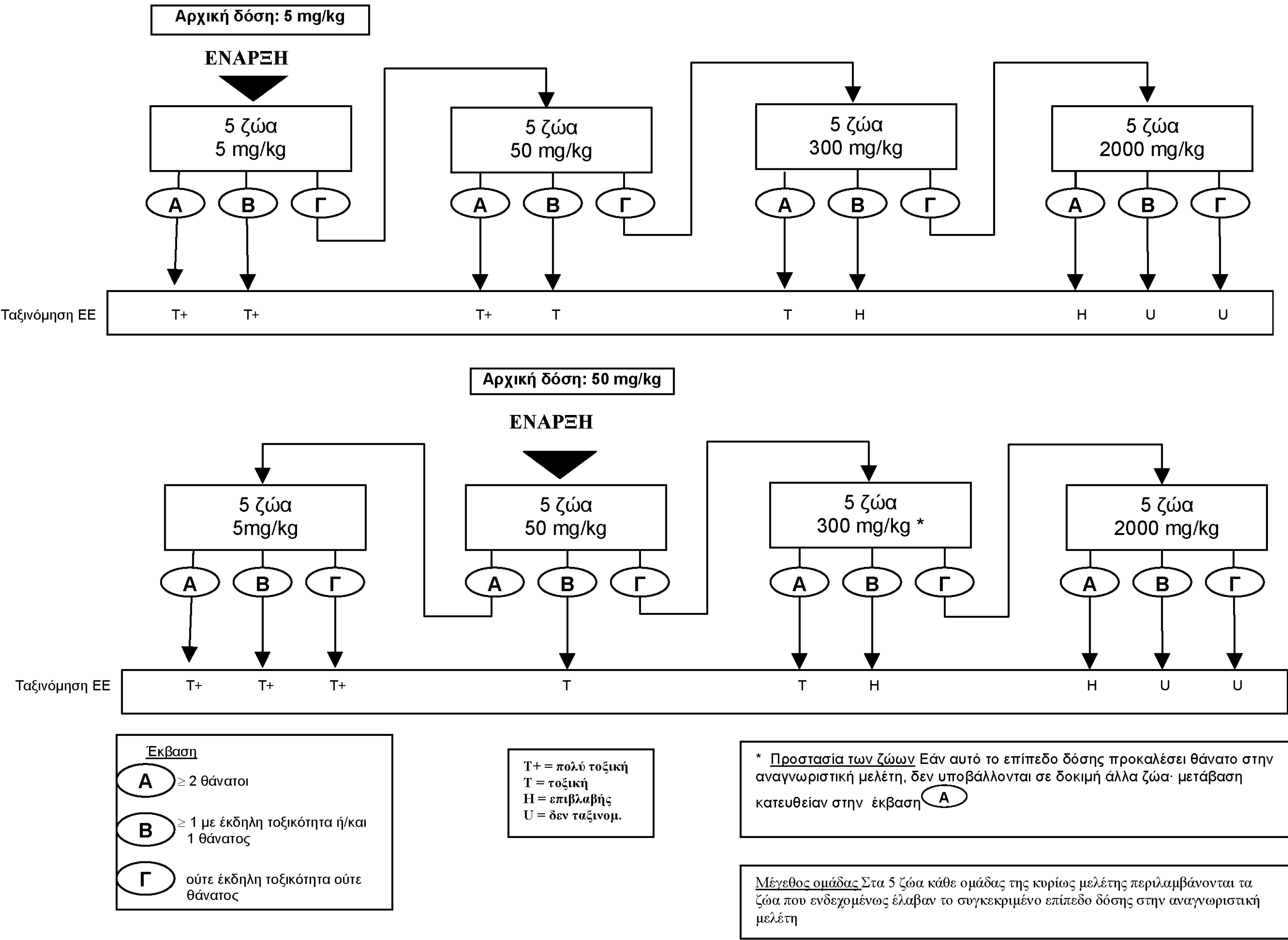
Οι κανόνες που διέπουν τη λήψη απόφασης στη διαδοχική διαδικασία του παραρτήματος 1 διευρύνονται, ώστε να συμπεριλάβουν το επίπεδο δόσης 5000 mg/kg. Συνεπώς, η έκβαση Α (θάνατος) σε αναγνωριστική μελέτη με αρχική δόση 5000 mg/kg απαιτεί την υποβολή δεύτερου ζώου σε δοκιμή με 2000 mg/kg, ενώ η έκβαση Β ή Γ (έκδηλη τοξικότητα ή απουσία τοξικότητας) επιτρέπει την επιλογή των 5000 mg/kg ως αρχικής δόσης για την κυρίως μελέτη. Ομοίως, εάν χρησιμοποιηθεί άλλη αρχική δόση πλην των 5000 mg/kg, τότε διεξάγεται δοκιμή με 5000 mg/kg, εφόσον η έκβαση στο επίπεδο 2000 mg/kg είναι Β ή Γ. Στη συνέχεια, η έκβαση Α στο επίπεδο 5000 mg/kg υπαγορεύει τη διεξαγωγή κυρίως μελέτης με αρχική δόση 2000 mg/kg, ενώ η έκβαση Β ή Γ τη χρήση αρχικής δόσης 5000 mg/kg στη μελέτη αυτή.

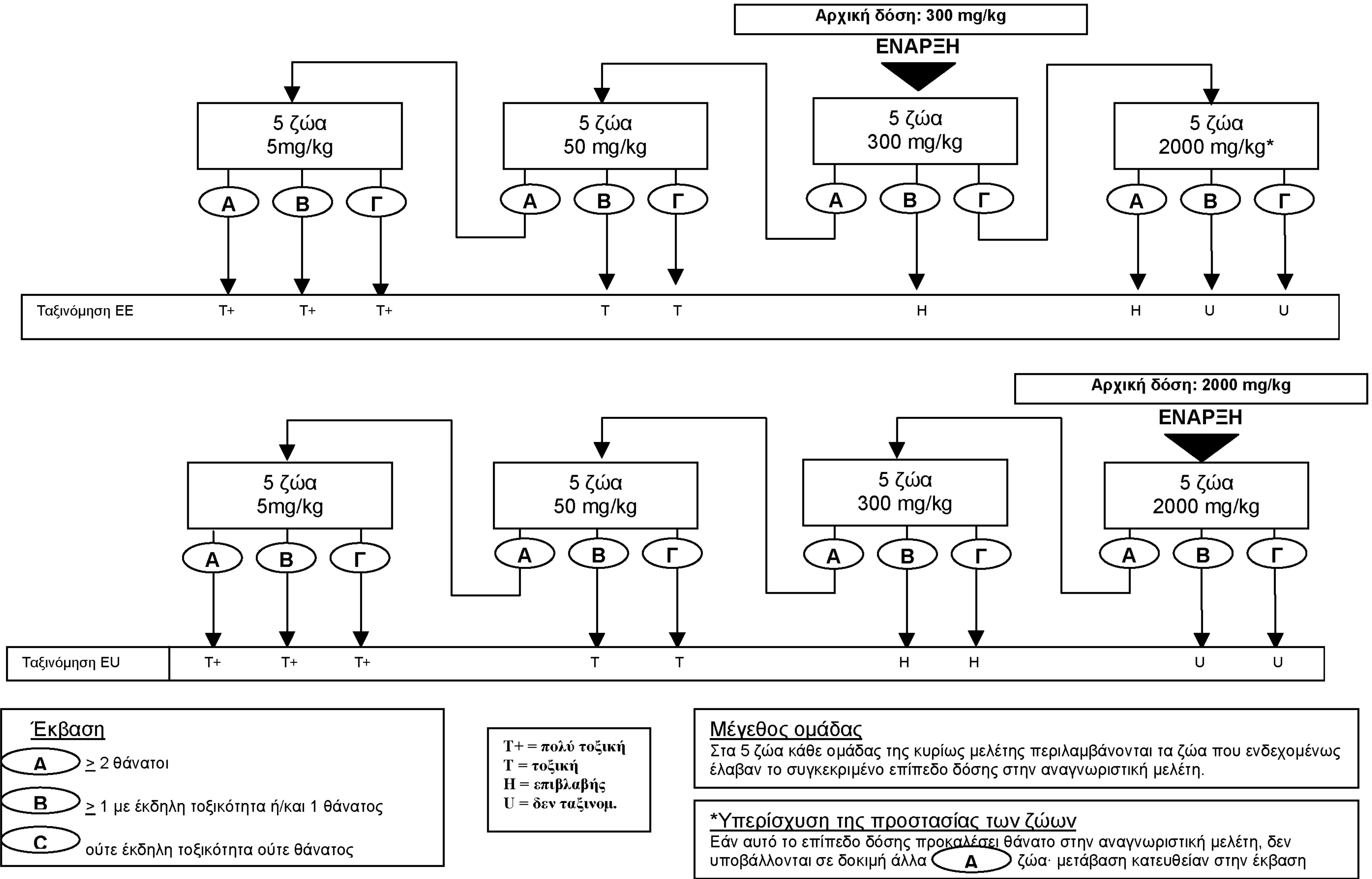
Κυρίως μελέτη

Οι κανόνες που διέπουν τη λήψη απόφασης στη διαδοχική διαδικασία του παραρτήματος 2 διευρύνονται, ώστε να συμπεριλάβουν το επίπεδο δόσης 5000 mg/kg. Συνεπώς, η έκβαση Α (≥ 2 θάνατοι) σε κυρίως μελέτη με αρχική δόση 5000 mg/kg απαιτεί την υποβολή δεύτερης ομάδας σε δοκιμή με 2000 mg/kg, ενώ η έκβαση Β (έκδηλη τοξικότητα ή/και ≤1 θάνατος) ή Γ (απουσία τοξικότητας) συνεπάγεται ότι η ουσία δεν ταξινομείται κατά GHS. Ομοίως, εάν χρησιμοποιηθεί άλλη αρχική δόση πλην των 5000 mg/kg, τότε διεξάγεται δοκιμή με 5000 mg/kg εφόσον η έκβαση στο επίπεδο 2000 mg/kg είναι Γ. Στη συνέχεια, η έκβαση Α στο επίπεδο 5000 mg/kg συνεπάγεται ότι η ουσία ταξινομείται στην κατηγορία 5 του GHS, ενώ η έκβαση Β ή Γ ότι η ουσία δεν ταξινομείται σύμφωνα με το σύστημα αυτό.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 4 :

ΜΕΘΟΔΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ Β.1 δις – *Οδηγίες για την ταξινόμηση σύμφωνα με το σύστημα της ΕΕ κατά τη μεταβατική περίοδο μέχρι να εφαρμοστεί πλήρως το παγκόσμιο εναρμονισμένο σύστημα ταξινόμησης* (GHS) (*έχουν ληφθεί από τη δημοσίευση* (8))




Αρχική δόση: 300 mg/kg
ΕΝΑΡΞΗ
5 ζώα
5mg/kg
5 ζώα
50 mg/kg
5 ζώα
300 mg/kg
5 ζώα
2000 mg/kg*
A
B
Γ
Ταξινόμηση ΕΕ
T+ T+ T+ T T H H U U
Αρχική δόση: 2000 mg/kg
ΕΝΑΡΞΗ
5 ζώα
5mg/kg
5 ζώα
50 mg/kg
5 ζώα
300 mg/kg
5 ζώα
2000 mg/kg
Ταξινόμηση EU
T+ T+ T+ T T H H U U
Έκβαση
A ≥ 2 θάνατοι
B ≥ 1 με έκδηλη τοξικότητα ή/και 1 θάνατος
C ούτε έκδηλη τοξικότητα ούτε θάνατος
T+ = πολύ τοξική
T = τοξική
H = επιβλαβής
U = δεν ταξινομ.
Μέγεθος ομάδας
Στα 5 ζώα κάθε ομάδας της κυρίως μελέτης περιλαμβάνονται τα ζώα που ενδεχομένως έλαβαν το συγκεκριμένο επίπεδο δόσης στην αναγνωριστική μελέτη.
*Υπερίσχυση της προστασίας των ζώων
Εάν αυτό το επίπεδο δόσης προκαλέσει θάνατο στην αναγνωριστική μελέτη, δεν υποβάλλονται σε δοκιμή άλλα ζώα· μετάβαση κατευθείαν στην έκβαση A

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2Γ

B.1 τρις. ΟΞΕΙΑ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΑΠΟ ΤΟ ΣΤΟΜΑ – ΜΕΘΟΔΟΣ ΤΩΝ ΚΛΑΣΕΩΝ ΟΞΕΙΑΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ

1. Η ΜΕΘΟΔΟΣ

Η παρούσα μέθοδος δοκιμών είναι ισοδύναμη με την κατευθυντήρια γραμμή δοκιμών TG 423 (2001) του ΟΟΣΑ.

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η μέθοδος των κλάσεων οξείας τοξικότητας (1) που περιγράφεται στην παρούσα κατευθυντήρια γραμμή συνίσταται σε μια βαθμιδωτή διαδικασία, σε κάθε στάδιο της οποίας χρησιμοποιούνται 3 ζώα του ίδιου φύλου. Για να είναι δυνατόν να κριθεί η οξεία τοξικότητα της ελεγχόμενης ουσίας, χρειάζονται κατά μέσον όρο 2-4 βαθμίδες, ανάλογα με τη θνησιμότητα ή/και την κατάσταση ετοιμοθάνατου των ζώων. Η διαδικασία διαθέτει επαναληψιμότητα, απαιτεί πολύ μικρό αριθμό ζώων και παρέχει ανάλογες δυνατότητες ταξινόμησης των ουσιών με τις άλλες μεθόδους δοκιμών οξείας τοξικότητας. Η μέθοδος των κλάσεων οξείας τοξικότητας βασίζεται σε βιομετρικές αξιολογήσεις (2)(3)(4)(5) με χρήση καθορισμένων δόσεων, οι οποίες διαφέρουν επαρκώς μεταξύ τους, ώστε να επιτρέπουν την ιεράρχηση των ελεγχόμενων ουσιών για τους σκοπούς της ταξινόμησης και της εκτίμησης κινδύνου. Η μέθοδος, που υιοθετήθηκε το 1996, αποτέλεσε αντικείμενο διεξοδικών μελετών ελέγχου της αξιοπιστίας *in vivo*, τόσο σε εθνική (6) όσο και σε διεθνή κλίμακα (7), έναντι δεδομένων σχετικών με την LD_{50} που ελήφθησαν από τη βιβλιογραφία.

Οδηγίες για την επιλογή της καταλληλότερης μεθόδου δοκιμών σε κάθε δεδομένη περίπτωση παρέχονται από το καθοδηγητικό έγγραφο "Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing" (8), το οποίο περιέχει επίσης συμπληρωματικές πληροφορίες σχετικά με την εφαρμογή και την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της μεθόδου δοκιμών Β.1.τρις.

Δεν απαιτείται να χορηγούνται οι ελεγχόμενες ουσίες σε δόσεις που είναι γνωστό ότι προκαλούν ισχυρούς πόνους και έντονη δυσφορία, εξαιτίας της διαβρωτικής ή πολύ ερεθιστικής δράσης των ουσιών. Τα ετοιμοθάνατα ζώα, καθώς και εκείνα που παρουσιάζουν σαφή σημεία πόνου ή έντονης και διαρκούς δυσφορίας, θανατώνονται με ευθανασία και λαμβάνονται υπόψη στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων με τον ίδιο τρόπο όπως τα ζώα που πεθαίνουν κατά τη δοκιμή. Τα κριτήρια για τη λήψη της απόφασης να θανατωθούν ετοιμοθάνατα ή βαρέως πάσχοντα ζώα, καθώς και οι οδηγίες για την αναγνώριση των ενδείξεων προβλέψιμου ή επικείμενου θανάτου, αποτελούν το αντικείμενο χωριστού καθοδηγητικού εγγράφου (9).

Στη μέθοδο χρησιμοποιούνται προκαθορισμένες δόσεις, ενώ τα αποτελέσματά της επιτρέπουν την ιεράρχηση και την ταξινόμηση των ουσιών σύμφωνα με το Παγκόσμιο Εναρμονισμένο Σύστημα Ταξινόμησης των χημικών ουσιών που προκαλούν οξεία τοξικότητα (10).

Η μέθοδος αυτή δεν έχει μελετηθεί, κατ' αρχήν, για να επιτρέπει τον ακριβή υπολογισμό της LD_{50}, αλλά τον προσδιορισμό καθορισμένου εύρους τιμών έκθεσης που αναμένεται να προκαλέσουν θνησιμότητα, δεδομένου ότι το βασικό τελικό σημείο της συγκεκριμένης δοκιμής παραμένει ο θάνατος ενός ποσοστού των πειραματόζωων. Η μέθοδος επιτρέπει τον προσδιορισμό τιμής LD_{50} μόνον στις περιπτώσεις όπου δύο τουλάχιστον δόσεις έχουν ως αποτέλεσμα θνησιμότητα μεγαλύτερη από 0% και μικρότερη από 100%. Η χρήση επιλεγμένων προκαθορισμένων δόσεων, ανεξαρτήτως της ελεγχόμενης ουσίας, σε συνδυασμό με τη ρητή σύνδεση της ταξινόμησης με τον αριθμό των ζώων που διαπιστώνεται ότι βρίσκονται σε μια σειρά διαφορετικών καταστάσεων, βελτιώνει τη συνέπεια των εκθέσεων δοκιμής και την επαναληπτικότητα της μεθόδου μεταξύ των εργαστηρίων.

Πριν από τη διεξαγωγή της μελέτης, το εργαστήριο δοκιμών θα πρέπει να λαμβάνει υπόψη όλα τα διαθέσιμα στοιχεία σχετικά με την ελεγχόμενη ουσία, μεταξύ των οποίων την ταυτότητα και τη χημική δομή της, τις φυσικές και χημικές ιδιότητές της, τα αποτελέσματα τυχόν άλλων δοκιμών τοξικότητας της ουσίας *in vitro* ή *in vivo*, τα τοξικολογικά δεδομένα που αφορούν ουσίες ανάλογης χημικής δομής, καθώς και την ή τις προβλεπόμενες χρήσεις της ουσίας. Οι πληροφορίες αυτές είναι απαραίτητες για να διασφαλίζεται ότι η διεξαγωγή της δοκιμής έχει ουσιαστική σημασία για την προστασία της υγείας του ανθρώπου και βοηθούν στην επιλογή της καταλληλότερης αρχικής δόσης.

1.2 ΟΡΙΣΜΟΙ

Οξεία τοξικότητα από το στόμα: οι δυσμενείς επιδράσεις που παρατηρούνται μετά τη χορήγηση από το στόμα μίας δόσης της ουσίας εφάπαξ ή πολλών δόσεων εντός 24ώρου.

Όψιμος θάνατος: η περίπτωση όπου ένα ζώο δεν πεθαίνει ούτε είναι ετοιμοθάνατο εντός 48 ωρών, αλλά πεθαίνει αργότερα στη διάρκεια της περιόδου παρατήρησης, που διαρκεί 14 ημέρες.

Δόση: η χορηγούμενη ποσότητα ελεγχόμενης ουσίας· εκφράζεται σε βάρος ελεγχόμενης ουσίας ανά μονάδα βάρους του πειραματοζώου (π.χ. mg/kg).

GHS: Παγκόσμιο Εναρμονισμένο Σύστημα Ταξινόμησης για τις χημικές ουσίες και τα μίγματά τους. Πρόκειται για κοινή πρωτοβουλία του ΟΟΣΑ (υγεία του ανθρώπου και περιβάλλον), της Επιτροπής Εμπειρογνωμόνων για τις Μεταφορές Επικίνδυνων Εμπορευμάτων του ΟΗΕ (φυσικές και χημικές ιδιότητες) και της Διεθνούς Οργάνωσης Εργασίας (γνωστοποίηση κινδύνων), με συντονιστή το Πρόγραμμα Διεθνών Οργανισμών για την ορθή Διαχείριση των Χημικών Προϊόντων (IOMC).

Επικείμενος θάνατος: η περίπτωση όπου αναμένεται κατάσταση ετοιμοθάνατου ή θάνατος πριν από τον επόμενο προγραμματισμένο χρόνο παρατήρησης. Μεταξύ των ενδείξεων επικείμενου θανάτου στα τρωκτικά περιλαμβάνονται οι σπασμοί, η πλάγια θέση, η κατάκλιση και ο τρόμος (για περισσότερες λεπτομέρειες, βλ. Καθοδηγητικό Έγγραφο για τα Τελικά σημεία Ευθανασίας (9)).

LD_{50} (διάμεσος θανατηφόρου δόσης): η στατιστικά λαμβανόμενη τιμή εφάπαξ δόσης μιας ουσίας που αναμένεται να προκαλέσει το θάνατο του 50 % των πειραματοζώων, όταν χορηγηθεί από το στόμα. Η τιμή LD_{50} εκφράζεται σε βάρος ελεγχόμενης ουσίας ανά μονάδα βάρους του πειραματοζώου (mg/kg).

Οριακή δόση: μια δόση που αποτελεί το ανώτατο όριο για τη δοκιμή (2000 ή 5000 mg/kg).

Κατάσταση ετοιμοθάνατου: η κατάσταση πολύ κοντά στο θάνατο ή η αδυναμία επιβίωσης ακόμη και μετά από θεραπευτική αγωγή (για περισσότερες λεπτομέρειες, βλ. Καθοδηγητικό Έγγραφο για τα Τελικά σημεία Ευθανασίας (9)).

Προβλέψιμος θάνατος: η εμφάνιση κλινικών συμπτωμάτων που αποτελούν ένδειξη μελλοντικού θανάτου σε γνωστό χρόνο πριν από τον προγραμματισμένο τερματισμό του πειράματος, λόγου χάριν η αδυναμία του πειραματόζωου να φθάσει την τροφή ή το νερό (για περισσότερες λεπτομέρειες, βλ. καθοδηγητικό έγγραφο για τα Τελικά σημεία Ευθανασίας (9)).

1.3 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΩΝ

Η αρχή της μεθόδου συνίσταται στη συγκέντρωση επαρκών στοιχείων για την οξεία τοξικότητα της ελεγχόμενης ουσίας, ώστε να είναι δυνατή η ταξινόμησή της, με βαθμιδωτή διαδικασία, σε κάθε στάδιο της οποίας χρησιμοποιείται ο ελάχιστος δυνατός αριθμός ζώων. Μία από τις προκαθορισμένες δόσεις ουσίας χορηγείται από το στόμα σε ομάδα πειραματοζώων. Η διαδικασία δοκιμής είναι βαθμιδωτή και σε κάθε στάδιό της χρησιμοποιούνται τρία ζώα του ίδιου φύλου (συνήθως θηλυκά). Η απουσία ή παρουσία θνησιμότητας των ζώων συνδεόμενης με την ουσία σε μια δεδομένη βαθμίδα, καθορίζει ποια θα είναι η επόμενη, δηλαδή:

— δεν χρειάζονται άλλες δοκιμές,
— χορήγηση της ίδιας δόσης σε τρία επιπλέον ζώα,
— χορήγηση της αμέσως υψηλότερης ή χαμηλότερης δόσης σε τρία επιπλέον ζώα.

Οι λεπτομέρειες της διαδικασίας δοκιμών παρατίθενται στο παράρτημα 1. Η μέθοδος επιτρέπει τη λήψη απόφασης σχετικά με την κατάταξη της ελεγχόμενης ουσίας σε μία από μια σειρά κλάσεων τοξικότητας, οι οποίες ορίζονται από καθορισμένες κρίσιμες τιμές LD_{50}.

1.4 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΩΝ

1.4.1 **Επιλογή είδους ζώων**

Το προτιμώμενο είδος τρωκτικού είναι ο επίμυς, αλλά μπορούν να χρησιμοποιηθούν και άλλα είδη τρωκτικών. Κατά κανόνα χρησιμοποιούνται θηλυκά ζώα (9), επειδή από τη βιβλιογραφική έρευνα για τις συμβατικές δοκιμές LD_{50} προκύπτει ότι, αν και οι διαφορές ευαισθησίας μεταξύ των δύο φύλων είναι συνήθως λίγες, όταν παρατηρούνται διαφορές, τα θηλυκά ζώα είναι κατά κανόνα ελαφρώς πιο ευαίσθητα (11). Εάν ωστόσο οι γνώσεις σχετικά με τις τοξικολογικές ή τοξικοκινητικές ιδιότητες χημικών ουσιών με ανάλογη χημική δομή συνηγορούν υπέρ του ότι τα αρσενικά ζώα είναι πιθανώς πιο ευπαθή, τότε θα πρέπει να προτιμάται αυτό το φύλο. Όταν η δοκιμή διεξάγεται σε αρσενικά ζώα, η επιλογή αυτή θα πρέπει να αιτιολογείται επαρκώς.

Πρέπει να χρησιμοποιούνται υγιή νεαρά ενήλικα ζώα που ανήκουν σε φυλές κοινής εργαστηριακής χρήσης. Τα θηλυκά ζώα πρέπει να μην έχουν ποτέ γεννήσει ούτε να εγκυμονούν. Κατά την έναρξη της χορήγησης των δόσεων, η ηλικία κάθε ζώου πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 8 και 12 εβδομάδων και το βάρος του να μην αποκλίνει περισσότερο από ± 20% από το μέσο βάρος των ζώων στα οποία έχει ενδεχομένως χορηγηθεί η ουσία σε προηγούμενο στάδιο.

1.4.2 **Συνθήκες στέγασης και διατροφής**

Η θερμοκρασία του θαλάμου πειραματόζωων πρέπει να είναι 22ºC (±3ºC). Αν και η σχετική υγρασία πρέπει να είναι τουλάχιστον 30% και, κατά προτίμηση, να μην υπερβαίνει το 70%, εκτός από τις περιόδους καθαρισμού του θαλάμου, εν τούτοις ο στόχος θα πρέπει να είναι μια τιμή 50-60%. Ο φωτισμός πρέπει να είναι τεχνητός, με εναλλαγή φωτός-σκότους ανά 12ωρο. Για τη διατροφή των ζώων μπορούν να χρησιμοποιούνται τα συνήθη εργαστηριακά σιτηρέσια, με απεριόριστη παροχή πόσιμου νερού. Τα ζώα μπορούν να τοποθετούνται ομαδικά σε κλουβιά κατά δόση, αλλά ο αριθμός ζώων σε κάθε κλουβί δεν πρέπει να παρεμποδίζει την ακριβή παρατήρηση του καθενός ζώου.

1.4.3 **Προετοιμασία των ζώων**

Τα ζώα επιλέγονται τυχαία, σημαίνονται με τρόπο που επιτρέπει την αναγνώριση του καθενός και παραμένουν στα κλουβιά τους τουλάχιστον για πέντε ημέρες πριν από την έναρξη της χορήγησης των δόσεων, ώστε να εγκλιματιστούν στις εργαστηριακές συνθήκες.

1.4.4 **Παρασκευή των δόσεων**

Ο χορηγούμενος όγκος της ελεγχόμενης ουσίας πρέπει κατά κανόνα να διατηρείται σταθερός σε όλη τη σειρά των δόσεων της δοκιμής με αλλαγή της συγκέντρωσης του χορηγούμενου παρασκευάσματος Όταν ωστόσο πρόκειται να ελεγχθεί ένα υγρό τελικό προϊόν ή μίγμα, η χρήση της ελεγχόμενης ουσίας χωρίς αραίωση, δηλαδή σε σταθερή συγκέντρωση, μπορεί να είναι πιο ενδεδειγμένη για τη μετέπειτα εκτίμηση των κινδύνων από αυτή την ουσία, ενώ αποτελεί και απαίτηση ορισμένων αρμόδιων για τις νομοθετικές ρυθμίσεις Αρχών. Σε κάθε περίπτωση, δεν επιτρέπεται υπέρβαση του μέγιστου όγκου χορηγούμενης δόσης. Ο μέγιστος όγκος υγρού που μπορεί να χορηγηθεί εφάπαξ εξαρτάται από το μέγεθος του πειραματόζωου. Στα τρωκτικά, ο όγκος δεν πρέπει κατά κανόνα να υπερβαίνει το 1ml/100g βάρους σώματος, αλλά στην περίπτωση των υδατικών διαλυμάτων μπορεί να εξετασθεί το ενδεχόμενο χορήγησης 2 ml/100g βάρους σώματος. Όσον αφορά τη μορφή του χορηγούμενου παρασκευάσματος, συνιστάται να χρησιμοποιούνται, κατά το δυνατόν, υδατικά διαλύματα/ εναιωρήματα/γαλακτώματα, με δεύτερα κατά σειρά προτίμησης τα διαλύματα/εναιωρήματα/γαλακτώματα σε έλαιο (π.χ. αραβοσιτέλαιο) και τελευταία τα διαλύματα σε άλλους φορείς. Σε περίπτωση χρήσης άλλου φορέα πλην του νερού, πρέπει να είναι γνωστές οι τοξικολογικές ιδιότητές του. Οι δόσεις πρέπει να παρασκευάζονται λίγο πριν από τη χορήγηση, εκτός εάν η σταθερότητα του παρασκευάσματος στο χρονικό διάστημα εντός του οποίου πρόκειται να χρησιμοποιηθεί είναι γνωστή και έχει κριθεί αποδεκτή.

1.5 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1.5.1 **Χορήγηση των δόσεων**

Η ελεγχόμενη ουσία χορηγείται εφάπαξ με τη βοήθεια ρινογαστρικού καθετήρα σίτισης ή κατάλληλου σωλήνα διασωλήνωσης. Στη σπάνια περίπτωση όπου η εφάπαξ χορήγηση δεν είναι εφικτή, η δόση μπορεί να χορηγηθεί τμηματικά εντός περιόδου που δεν υπερβαίνει τις 24 ώρες.

Πριν από τη χορήγηση των δόσεων, τα ζώα υποβάλλονται σε νηστεία (π.χ. διακοπή της σίτισης, αλλά όχι της παροχής νερού για όλη την προηγούμενη νύκτα, όταν χρησιμοποιούνται επίμυες, ή για 3-4 ώρες, όταν χρησιμοποιούνται ποντικοί). Μετά την περίοδο νηστείας, τα ζώα ζυγίζονται και τους χορηγείται η ελεγχόμενη ουσία. Η διακοπή της σίτισης μπορεί να συνεχιστεί και μετά τη χορήγηση της ουσίας για 3-4 ώρες, προκειμένου για επίμυες, ή 1-2 ώρες, προκειμένου για ποντικούς. Σε περίπτωση τμηματικής χορήγησης της δόσης εντός ορισμένου χρόνου, μπορεί να χρειαστεί να δοθεί στα ζώα τροφή και νερό, ανάλογα με τη διάρκεια του συγκεκριμένου χρονικού διαστήματος.

1.5.2 **Αριθμός ζώων και επίπεδα δόσεων**

Σε κάθε βαθμίδα χρησιμοποιούνται τρία ζώα. Η αρχική δόση επιλέγεται μεταξύ τεσσάρων προκαθορισμένων επιπέδων, που είναι τα 5, 50, 300 και 2000 mg/kg βάρους σώματος. Η αρχική δόση θα πρέπει να είναι το επίπεδο με τις μεγαλύτερες πιθανότητες να προκαλέσει το θάνατο ορισμένων από τα ζώα στα οποία θα χορηγηθεί. Η διαδικασία που θα πρέπει να εφαρμόζεται για κάθε επίπεδο αρχικής δόσης εμφαίνεται στα διαγράμματα ροής του παραρτήματος 1. Επιπλέον, το παράρτημα 4 παρέχει καθοδήγηση για την ταξινόμηση κατά το σύστημα της ΕΕ μέχρι να εφαρμοστεί το νέο GHS.

Όταν από τα διαθέσιμα στοιχεία συνάγεται μικρή πιθανότητα θνησιμότητας στο υψηλότερο επίπεδο αρχικής δόσης (2000 mg/kg βάρους σώματος), θα πρέπει να διεξάγεται οριακή δοκιμή. Εάν δεν υπάρχουν στοιχεία για την ουσία που πρόκειται να ελεγχθεί, συνιστάται να χρησιμοποιείται αρχική δόση 300 mg/kg βάρους σώματος για λόγους προστασίας των ζώων.

Το χρονικό διάστημα μεταξύ των δόσεων καθορίζεται με την έναρξη, τη διάρκεια και τη σοβαρότητα των συμπτωμάτων τοξικότητας. Η χορήγηση της επόμενης δόσης θα πρέπει να καθυστερεί μέχρις ότου είναι βέβαιο ότι τα ζώα που έλαβαν την προηγούμενη θα επιζήσουν.

Κατ΄εξαίρεση, και μόνον εφόσον το επιβάλλουν συγκεκριμένες ανάγκες νομοθετικής ρύθμισης, μπορεί να εξεταστεί η χρήση ενός επιπλέον ανώτατου επιπέδου δόσης 5000 mg/kg (βλ. παράρτημα 2). Για λόγους προστασίας των ζώων, η διεξαγωγή δοκιμών σε ζώα με δόσεις της κλίμακας που ορίζει την κατηγορία 5 του GHS (2000-5000 mg/kg) δεν συνιστάται και θα πρέπει να εξετάζεται μόνον εφόσον υπάρχουν μεγάλες πιθανότητες τα αποτελέσματα των δοκιμών αυτών να έχουν άμεση, ουσιαστική σημασία για την προστασία της υγείας του ανθρώπου ή των ζώων ή για την προστασία του περιβάλλοντος.

1.5.3 **Οριακή δοκιμή**

Η οριακή δοκιμή χρησιμοποιείται κυρίως στις περιπτώσεις όπου ο ερευνητής έχει στη διάθεσή του στοιχεία, από τα οποία προκύπτει ότι η ελεγχόμενη ουσία μάλλον δεν είναι τοξική, δηλαδή ότι έχει τοξικές επιδράσεις μόνον εάν ληφθεί σε δόσεις μεγαλύτερες από τις οριακές τιμές που προβλέπονται στις νομοθετικές ρυθμίσεις. Στοιχεία σχετικά με την τοξικότητα της ελεγχόμενης ουσίας είναι δυνατόν να συναχθούν από τα αποτελέσματα δοκιμών που έχουν διεξαχθεί με ενώσεις, μίγματα ή προϊόντα ανάλογης χημικής δομής, λαμβάνοντας υπόψη την ταυτότητα και την εκατοστιαία αναλογία των σημαντικών από τοξικολογική άποψη συστατικών. Στις περιπτώσεις όπου δεν υπάρχουν καθόλου ή υπάρχουν ελάχιστα στοιχεία για την τοξικότητα της ελεγχόμενης ουσίας ή εάν η τελευταία αναμένεται να είναι τοξική, πρέπει να διεξάγεται η κυρίως δοκιμή.

Μπορεί να διεξαχθεί οριακή δοκιμή με δόση 2000 mg/kg βάρους σώματος σε έξι ζώα (τρία ανά βαθμίδα). Κατ' εξαίρεση, μπορεί να διεξαχθεί οριακή δοκιμή με δόση 5000 mg/kg σε τρία ζώα (βλ. παράρτημα 2). Εάν διαπιστωθεί θνησιμότητα συνδεόμενη με την ελεγχόμενη ουσία, μπορεί να χρειαστεί να διεξαχθεί δοκιμή με το αμέσως χαμηλότερο επίπεδο δόσης.

1.6 **ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ**

Τα ζώα εξετάζονται το καθένα χωριστά τουλάχιστον μία φορά εντός των πρώτων 30 λεπτών από τη χορήγηση της ουσίας και τακτικά στη διάρκεια του πρώτου 24ώρου, με ιδιαίτερη προσοχή στις πρώτες 4 ώρες. Στη συνέχεια, εξετάζονται καθημερινά για 14 ημέρες συνολικά, εκτός εάν χρειαστεί να αποσυρθούν από τη μελέτη και να θανατωθούν με ευθανασία για να μην υποφέρουν ή εάν βρεθούν νεκρά. Η διάρκεια της περιόδου παρατήρησης δεν πρέπει πάντως να είναι αυστηρά καθορισμένη, αλλά να συναρτάται με τις τοξικές αντιδράσεις, το χρόνο έναρξής τους και το χρόνο ανάρρωσης· συνεπώς, μπορεί να παρατείνεται, εφόσον κρίνεται απαραίτητο. Ο χρόνος εμφάνισης και εξαφάνισης των συμπτωμάτων τοξικότητας έχει μεγάλη σημασία, ιδίως στις περιπτώσεις όπου αυτά τείνουν να εκδηλώνονται με καθυστέρηση (11). Όλες οι παρατηρήσεις καταγράφονται συστηματικά σε χωριστό αρχείο για κάθε ζώο.

Εάν τα ζώα εξακολουθούν να παρουσιάζουν συμπτώματα τοξικότητας, απαιτούνται συμπληρωματικές παρατηρήσεις, μεταξύ των οποίων αλλαγές στο δέρμα και στο τρίχωμα, στους οφθαλμούς και στους βλεννογόνους, επίσης στη λειτουργία του αναπνευστικού και του κυκλοφοριακού συστήματος, του Κ.Ν.Σ και του (αυτόνομου), καθώς και στη σωματική κινητικότητα και τη συμπεριφορά. Η προσοχή πρέπει να εστιάζεται σε παρατηρήσεις των σημείων τρόμου, σπασμών, σιελόρροιας, διάρροιας, υπνηλίας, λήθαργου και κώματος. Πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι γενικές αρχές και τα κριτήρια που συνοψίζονται στο καθοδηγητικό έγγραφο για τα τελικά σημεία ευθανασίας (9). Τα ετοιμοθάνατα ζώα και όσα παρουσιάζουν ισχυρούς πόνους ή διαρκή σημεία έντονης δυσφορίας θα πρέπει να θανατώνονται με ευθανασία. Ο χρόνος θανάτου των ζώων που θανατώνονται για να μην υποφέρουν ή βρίσκονται νεκρά θα πρέπει να σημειώνεται με τη μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια.

1.6.1 **Βάρος σώματος**

Το βάρος κάθε ζώου πρέπει να μετριέται λίγο πριν από τη χορήγηση της ελεγχόμενης ουσίας και, κατόπιν, τουλάχιστον ανά εβδομάδα. Πρέπει να υπολογίζονται οι αλλαγές βάρους και να καταγράφονται. Στο τέλος της δοκιμής, τα ζώα που έχουν επιζήσει ζυγίζονται και έπειτα θανατώνονται με ευθανασία·.

1.6.2 **Παθολογία**

Σε όλα τα ζώα της δοκιμής (συμπεριλαμβανομένων εκείνων που πεθαίνουν στη διάρκεια της δοκιμής ή αποσύρονται από τη μελέτη για να μην υποφέρουν) πρέπει να διενεργείται μη λεπτομερειακή νεκροψία-νεκροτομία. Για κάθε ζώο, πρέπει να καταγράφονται όλες οι μακροσκοπικές παθολογικές αλλοιώσεις. Στα ζώα που επιζούν 24 ή περισσότερες ώρες μετά τη χορήγηση της πρώτης δόσης, μπορεί επιπλέον να πραγματοποιείται μικροσκοπική εξέταση των οργάνων που εμφανίζουν μακροσκοπικώς παθολογικές αλλοιώσεις, καθώς από την εξέταση αυτή ενδέχεται να προκύψουν χρήσιμα στοιχεία.

2. **ΔΕΔΟΜΕΝΑ**

Πρέπει να παρέχονται τα δεδομένα για κάθε ζώο χωριστά.. Επιπλέον, το σύνολο των δεδομένων πρέπει να συνοψίζεται σε πίνακα, όπου θα εμφαίνονται, για κάθε ομάδα της δοκιμής, ο αριθμός ζώων που χρησιμοποιήθηκαν, ο αριθμός ζώων που παρουσίασαν συμπτώματα τοξικότητας, ο αριθμός ζώων που βρέθηκαν νεκρά στη διάρκεια της δοκιμής ή θανατώθηκαν για να μην υποφέρουν, ο χρόνος θανάτου κάθε ζώου, περιγραφή και εξέλιξη των τοξικών επιδράσεων και κατά πόσον ήταν ανατάξιμες, καθώς και τα ευρήματα από τη νεκροψία.

3. **ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΝ**

3.1 **Έκθεση δοκιμής**

Η έκθεση δοκιμής θα πρέπει να περιλαμβάνει τα ακόλουθα στοιχεία, κατά περίπτωση:

Ελεγχόμενη ουσία:

— φυσική κατάσταση, καθαρότητα και, εφόσον έχει σημασία, φυσικές και χημικές ιδιότητες (συμπεριλαμβανομένης της ισομερείωσης)·
— στοιχεία ταυτότητας, μεταξύ των οποίων τον αριθμό CAS.

Φορέας (κατά περίπτωση):

— αιτιολόγηση της επιλογής άλλου φορέα εκτός από νερό.

Πειραματόζωα

— είδος/φυλή που χρησιμοποιήθηκε·
— μικροβιολογική κατάσταση των ζώων, εφόσον είναι γνωστή·
— αριθμό, ηλικία και φύλο των ζώων (όπου συμπεριλαμβάνεται, κατά περίπτωση, αιτιολόγηση της χρήσης αρσενικών αντί θηλυκών ζώων)·
— προέλευση των ζώων, συνθήκες στέγασης, σιτηρέσιο κλπ..

Συνθήκες δοκιμής:

— λεπτομέρειες για τον τύπο της ελεγχόμενης ουσίας, συμπεριλαμβανομένης της φυσικής κατάστασης στην οποία χορηγήθηκε·
— λεπτομέρειες για τη χορήγηση της ελεγχόμενης ουσίας, συμπεριλαμβανομένων των όγκων και του χρόνου χορήγησης των δόσεων ·
— λεπτομέρειες για την ποιότητα της τροφής και του νερού (μεταξύ άλλων, τύπος/προέλευση του σιτηρεσίου, προέλευση του νερού)·
— αιτιολόγηση της επιλογής της αρχικής δόσης.

Αποτελέσματα:

— πίνακα με τα δεδομένα απόκρισης και τα επίπεδα δόσης για κάθε ζώο (δηλ. ζώα που παρουσίασαν συμπτώματα τοξικότητας, συμπεριλαμβανομένης της θνησιμότητας, φύση, σοβαρότητα και διάρκεια των επιδράσεων)·
— πίνακα με τα βάρη των ζώων και τις μεταβολές τους·
— για κάθε ζώο, βάρος την ημέρα χορήγησης της δόσης, κατόπιν ανά εβδομάδα και, τέλος, κατά το χρόνο θανάτου ή θανάτωσης·
— ημερομηνία και ώρα θανάτου, εάν επήλθε νωρίτερα από την προγραμματισμένη θανάτωση·
— για κάθε ζώο, το χρόνο εκδήλωσης και την εξέλιξη των συμπτωμάτων τοξικότητας, καθώς και το κατά πόσον αυτά ήταν ανατάξιμα·
— για κάθε ζώο, ευρήματα από τη νεκροψία και τα ιστοπαθολογικά ευρήματα, εφόσον υπάρχουν.

Συζήτηση και ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Συμπεράσματα.

4 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

(1) Roll R., Höfer-Bosse Th. And Kayser D. (1986). New Perspectives in Acute Toxicity Testing of Chemicals. Toxicol. Lett., Suppl. 31, 86

(2) Roll R., Riebschläger M., Mischke U. and Kayser D. (1989). Neue Wege zur Bestimmung der akuten Toxizität von Chemikalien. Bundesgesundheitsblatt 32, 336-341.

(3) Diener W., Sichha L., Mischke U., Kayser D. and Schlede E. (1994). The Biometric Evaluation of the Acute-Toxic-Class Method (Oral). Arch. Toxicol. 68, 559-610

(4) Diener W., Mischke U., Kayser D. and Schlede E. (1995). The Biometric Evaluation of the OECD Modified Version of the Acute-Toxic-Class Method (Oral). Arch. Toxicol. 69, 729-734.

(5) Diener W., and Schlede E. (1999) Acute Toxicity Class Methods: Alterations to LD/LC_{50} Tests. ALTEX 16, 129-134

(6) Schlede E., Mischke U., Roll R. and Kayser D. (1992). A National Validation Study of the Acute-Toxic- Class Method – An Alternative to the LD_{50} Test. Arch. Toxicol. 66, 455-470.

(7) Schlede E., Mischke U., Diener W. and Kayser D. (1994). The International Validation Study of the Acute-Toxic-Class Method (Oral). Arch. Toxicol. 69, 659-670.

(8) OECD (2001) Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment N. 24. Paris.

(9) OECD (2000) Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment N 19.

(10) OECD (1998) Harmonized Integrated Hazard Classification System For Human Health And Environmental Effects Of Chemical Substances as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals in November 1998, Part 2, p. 11 [http://webnet1.oecd.org/oecd/pages/home/displaygeneral/0,3380,EN-documents-521-14-no-24-no-0,FF.html].

(11) Lipnick R L, Cotruvo, J A, Hill R N, Bruce R D, Stitzel K A, Walker A P, Chu I; Goddard M, Segal L, Springer J A and Myers R C (1995) Comparison of the Up-and Down, Conventional LD_{50}, and Fixed Dose Acute Toxicity Procedures. Fd. Chem. Toxicol 33, 223-231.

(12) Chan P.K. and A.W. Hayes. (1994). Chap. 16. Acute Toxicity and Eye Irritancy. *Principles and Methods of Toxicology*. Third Edition. A.W. Hayes, Editor. Raven Press, Ltd., New York, USA.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΟΥ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΕΦΑΡΜΟΖΕΤΑΙ ΓΙΑ ΚΑΘΕ ΑΡΧΙΚΗ ΔΟΣΗ

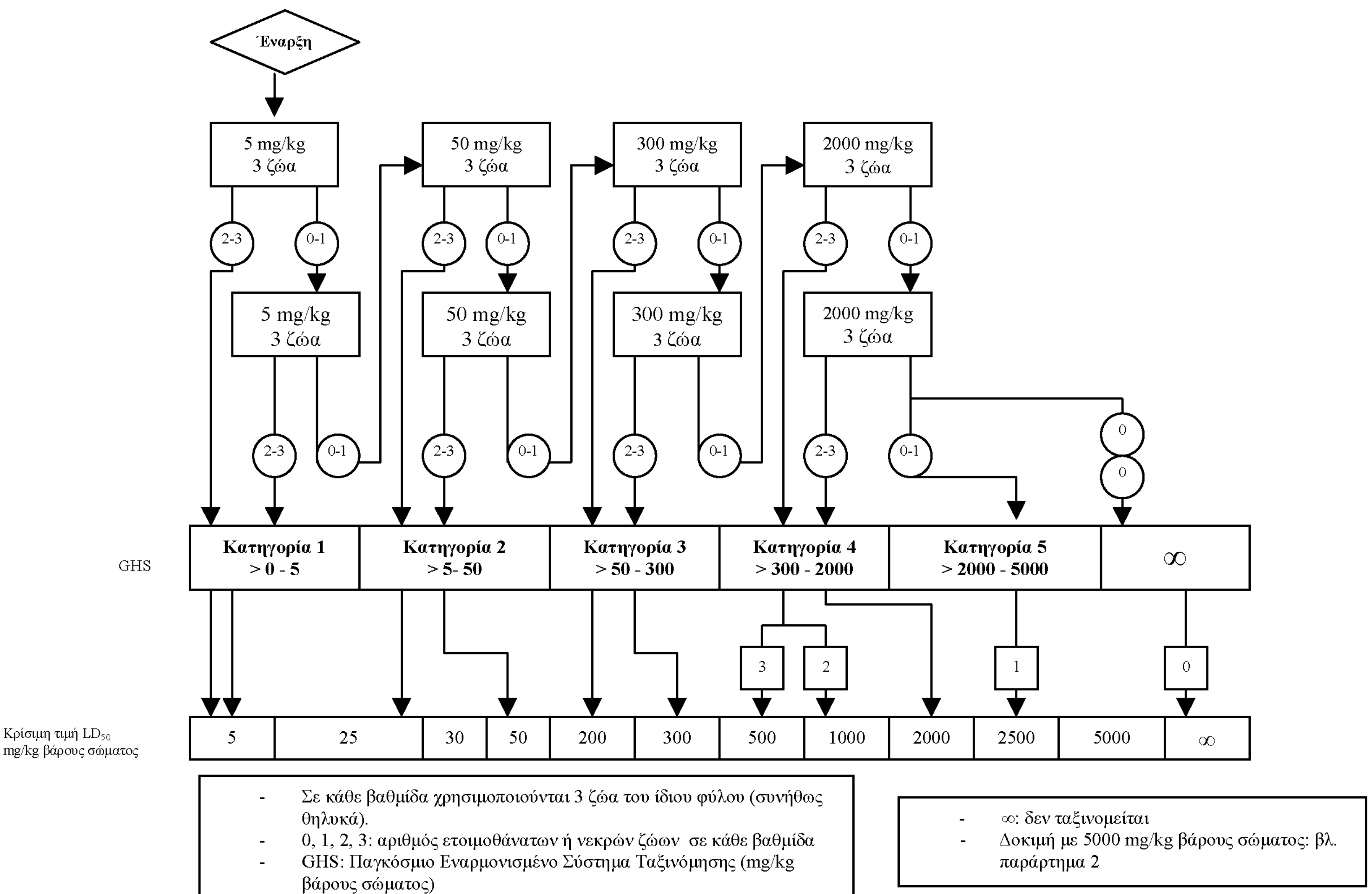
ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

Η διαδικασία που πρέπει να εφαρμόζεται για κάθε αρχική δόση περιγράφεται σχηματικά στα αντίστοιχα διαγράμματα δοκιμών του παρόντος παραρτήματος.

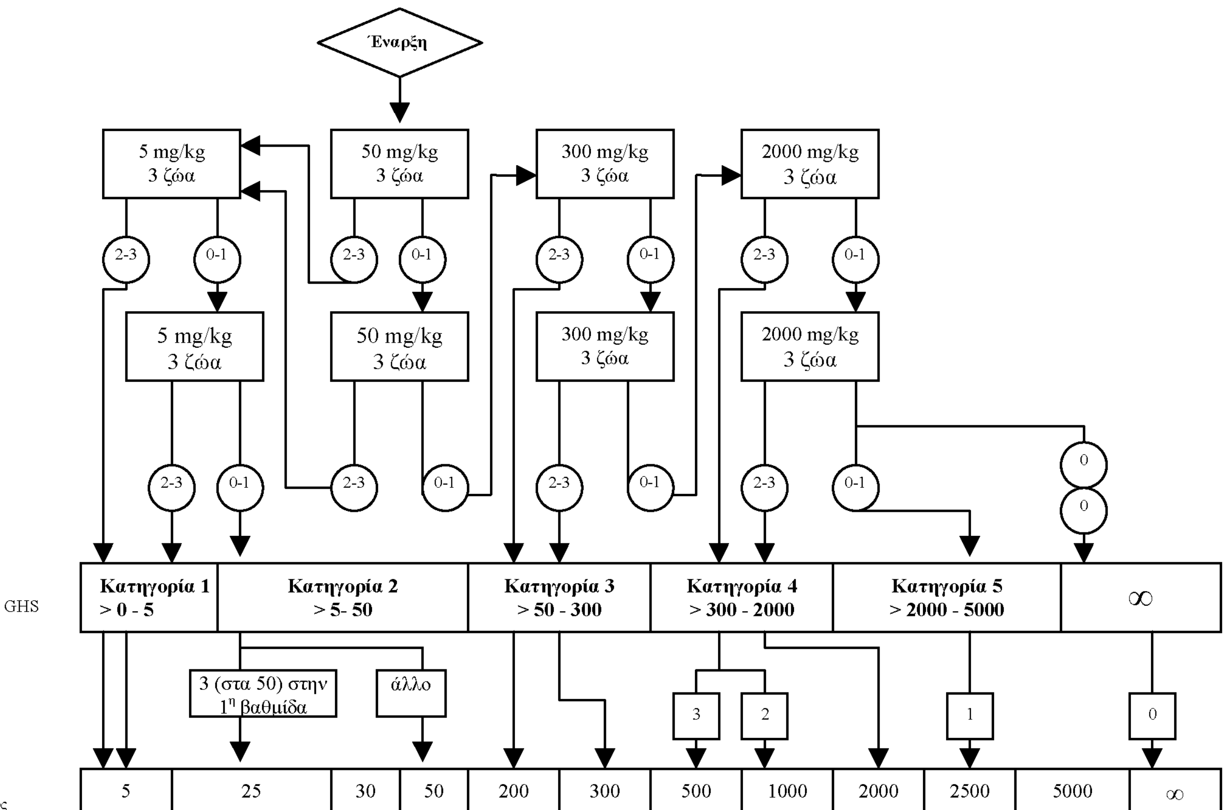
— Παράρτημα 1 Α: αρχική δόση 5 mg/kg βάρους σώματος
— Παράρτημα 1 Β: αρχική δόση 50 mg/kg βάρους σώματος
— Παράρτημα 1 Γ: αρχική δόση 300 mg/kg βάρους σώματος
— Παράρτημα 1 Δ: αρχική δόση 2000 mg/kg βάρους σώματος.

Ανάλογα με τον αριθμό των ζώων που θανατώνονται με ευθανασία ή βρίσκονται νεκρά, η διαδικασία δοκιμών ακολουθεί την πορεία που υποδεικνύεται με βέλη.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1 Α
ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΔΟΚΙΜΩΝ ΜΕ ΑΡΧΙΚΗ ΔΟΣΗ 5 MG/KG ΒΑΡΟΥΣ ΣΩΜΑΤΟΣ



ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1 Β
ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΔΟΚΙΜΩΝ ΜΕ ΑΡΧΙΚΗ ΔΟΣΗ 50 MG/KG ΒΑΡΟΥΣ ΣΩΜΑΤΟΣ

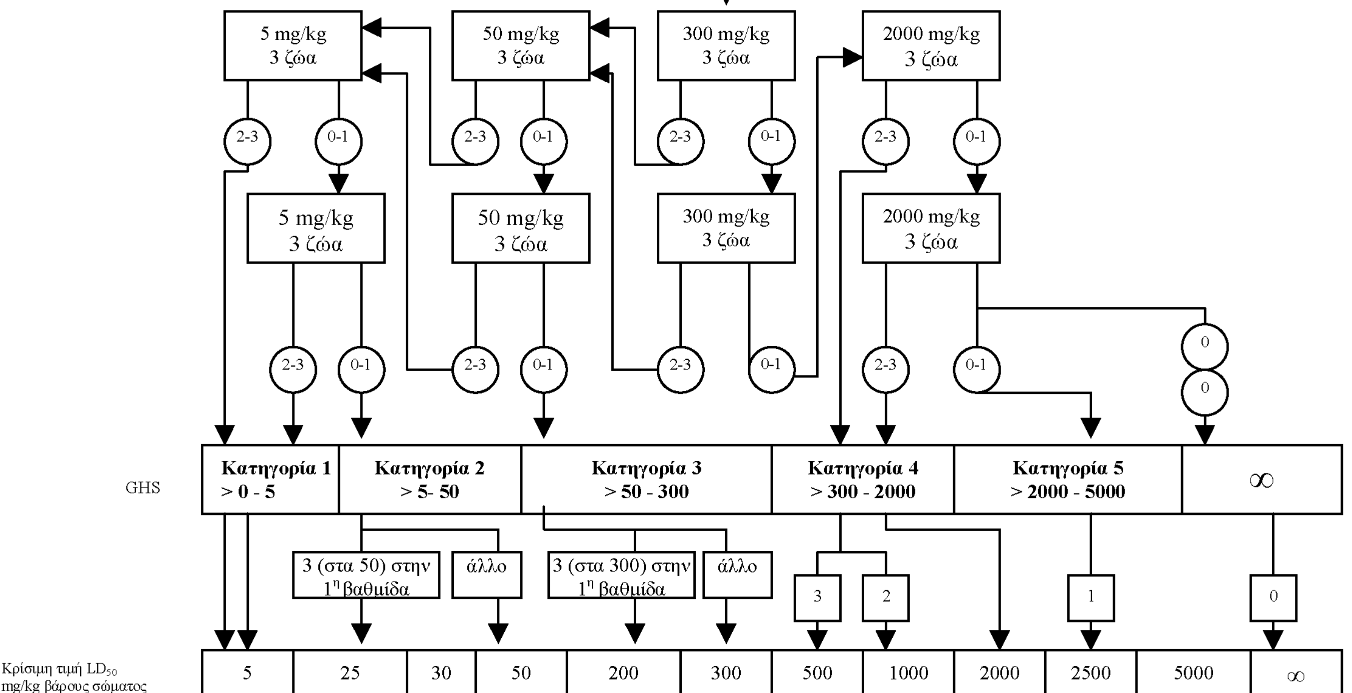


- Σε κάθε βαθμίδα χρησιμοποιούνται 3 ζώα του ίδιου φύλου (συνήθως θηλυκά).
- 0, 1, 2, 3: αριθμός ετοιμοθάνατων ή νεκρών ζώων σε κάθε βαθμίδα
- GHS: Παγκόσμιο Εναρμονισμένο Σύστημα Ταξινόμησης (mg/kg βάρους σώματος)

- ∞: δεν ταξινομείται
- Δοκιμή με 5000 mg/kg βάρους σώματος: βλ. παράρτημα 2

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1 Γ

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΔΟΚΙΜΩΝ ΜΕ ΑΡΧΙΚΗ ΔΟΣΗ 300 MG/KG ΒΑΡΟΥΣ ΣΩΜΑΤΟΣ



- Σε κάθε βαθμίδα χρησιμοποιούνται 3 ζώα του ίδιου φύλου (συνήθως θηλυκά).
- 0, 1, 2, 3: αριθμός ετοιμοθάνατων ή νεκρών ζώων σε κάθε βαθμίδα
- GHS: Παγκόσμιο Εναρμονισμένο Σύστημα Ταξινόμησης (mg/kg βάρους σώματος)

- ∞: δεν ταξινομείται
- Δοκιμή με 5000 mg/kg βάρους σώματος: βλ παράρτημα 2

ANNEX 1 Δ
ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΔΟΚΙΜΩΝ ΜΕ ΑΡΧΙΚΗ ΔΟΣΗ 2000 MG/KG ΒΑΡΟΥΣ ΣΩΜΑΤΟΣ

Έναρξη

2000 mg/kg 3 ζώα
300 mg/kg 3 ζώα
50 mg/kg 3 ζώα
5 mg/kg 3 ζώα

2-3 | 0-1

0 | 0

GHS

Κατηγορία 1 > 0 - 5	Κατηγορία 2 > 5- 50	Κατηγορία 3 > 50 - 300	Κατηγορία 4 > 300 - 2000	Κατηγορία 5 > 2000 - 5000	∞

3 (στα 50) στην 1η βαθμίδα | άλλο | 3 (στα 300) στην 1η βαθμίδα | άλλο | 3 (στα 2000) στην 1η βαθ. | 2 (στα 2000) στην 1η βαθμ. | άλλο | 1 | 0

Κρίσιμη τιμή LD_{50} mg/kg βάρους σώματος

5	25	30	50	200	300	500	1000	2000	2500	5000	∞

- Σε κάθε βαθμίδα χρησιμοποιούνται 3 ζώα του ίδιου φύλου (συνήθως θηλυκά).
- 0, 1, 2, 3: αριθμός ετοιμοθάνατων ή νεκρών ζώων σε κάθε βαθμίδα
- GHS: Παγκόσμιο Εναρμονισμένο Σύστημα Ταξινόμησης (mg/kg βάρους σώματος)

- ∞: δεν ταξινομείται
- Δοκιμή με 5000 mg/kg βάρους σώματος: βλ. παράρτημα 2

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2

ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΤΩΝ ΟΠΟΙΩΝ ΟΙ ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ LD_{50} ΥΠΕΡΒΑΙΝΟΥΝ ΤΑ 2000 MG/KG, ΧΩΡΙΣ ΝΑ ΧΡΕΙΑΖΕΤΑΙ ΝΑ ΔΙΕΞΑΧΘΟΥΝ ΔΟΚΙΜΕΣ

Σκοπός των κριτηρίων ταξινόμησης στην κατηγορία κινδύνου 5 είναι να επιτρέψουν την ταυτοποίηση ελεγχόμενων ουσιών που ενέχουν σχετικά χαμηλό κίνδυνο οξείας τοξικότητας, αλλά σε ορισμένες περιστάσεις ενδέχεται να είναι επικίνδυνες για ευπαθείς ομάδες του πληθυσμού. Η τιμή LD_{50} από το στόμα ή το δέρμα για τις ουσίες αυτές αναμένεται να περιλαμβάνεται στη περιοχή τιμών 2000-5000 mg/kg ή ισοδύναμων δόσεων, προκειμένου για άλλες οδούς έκθεσης. Μια ελεγχόμενη ουσία θα μπορούσε να ταξινομηθεί στην κατηγορία κινδύνου που ορίζεται από την κλίμακα: 2000mg/kg $< LD_{50} <$ 5000mg/kg (κατηγορία 5 κατά GHS) στις ακόλουθες περιπτώσεις:

α) εάν κάποιο από τα σχήματα δοκιμών του παραρτήματος 1 Α-1 Δ κατευθύνει προς την κατηγορία αυτή με βάση τη συχνότητα θανάτων·

β) εάν υπάρχουν ήδη αξιόπιστα στοιχεία που δείχνουν ότι η τιμή LD_{50} περιλαμβάνεται στη περιοχή τιμών της κατηγορίας 5 ή εάν τα αποτελέσματα άλλων μελετών σε ζώα ή παρατηρήσεις τοξικών επιδράσεων στον άνθρωπο δημιουργούν ανησυχίες για οξείες βλάβες στην υγεία του ανθρώπου·

γ) εάν μετά από παρέκταση δεδομένων, υπολογισμούς κατά προσέγγιση ή μετρήσεις δεν δικαιολογείται η κατάταξη σε ανώτερη κατηγορία κινδύνου και

— υπάρχουν αξιόπιστα στοιχεία που δείχνουν σοβαρές τοξικές επιδράσεις στον άνθρωπο ή
— έχει παρατηρηθεί θνησιμότητα σε δοκιμές από το στόμα με τιμές δόσεων έως και της κατηγορίας 4 ή
— οι απόψεις των ειδικών επιβεβαιώνουν σοβαρά κλινικά συμπτώματα τοξικότητας — εκτός από διάρροια, ανόρθωση του τριχώματος και ταλαιπωρημένη εμφάνιση — που έχουν παρατηρηθεί σε δοκιμές με τιμές δόσεων έως και της κατηγορίας 4 ή
— οι απόψεις των ειδικών επιβεβαιώνουν αξιόπιστες ενδείξεις πιθανής σοβαρής, οξείας τοξικής επίδρασης, οι οποίες έχουν προκύψει από άλλες μελέτες σε ζώα.

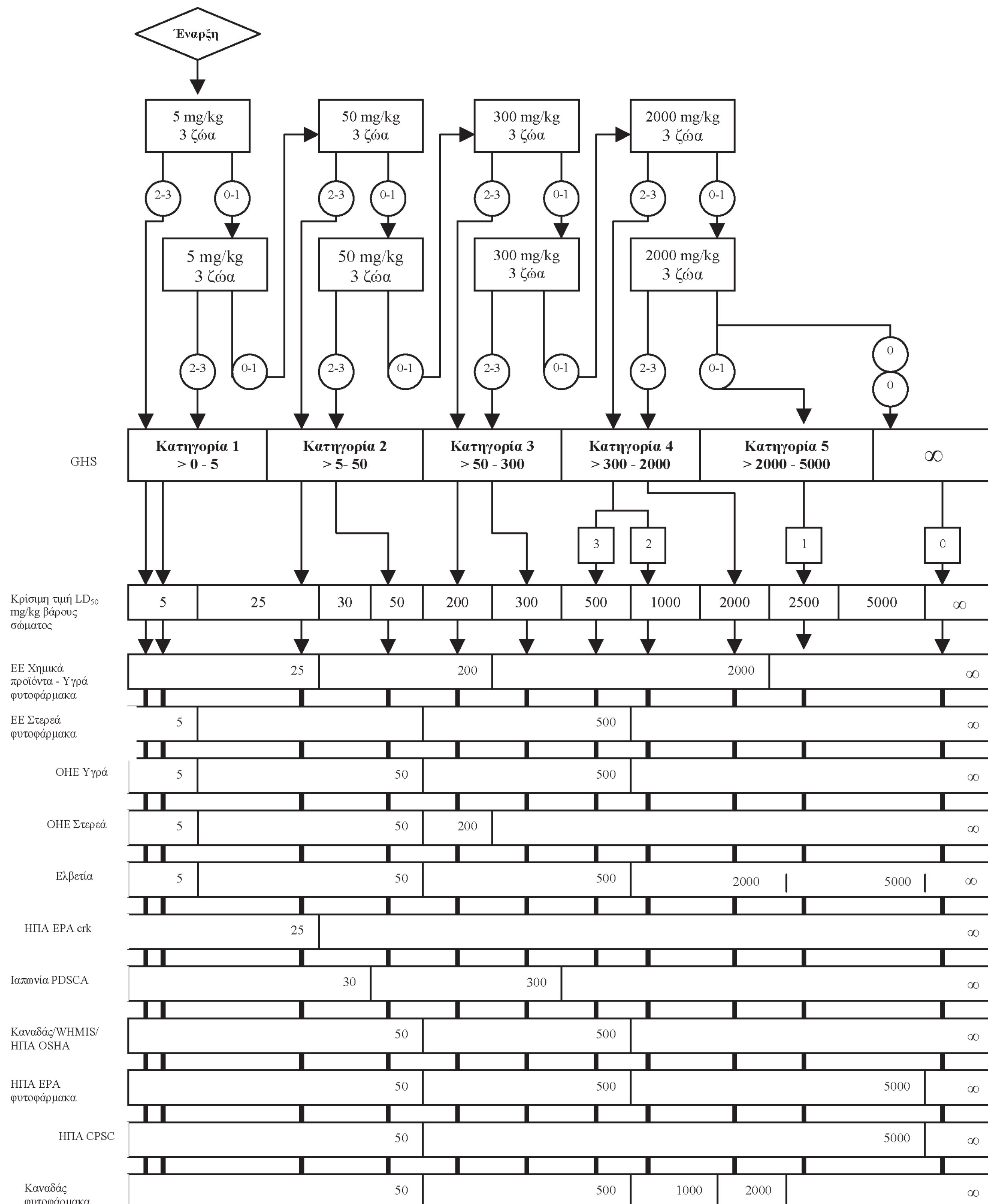
ΔΙΕΞΑΓΩΓΗ ΔΟΚΙΜΩΝ ΜΕ ΔΟΣΕΙΣ ΑΝΩ ΤΩΝ 2000 MG/KG

Για λόγους προστασίας των ζώων, η διεξαγωγή δοκιμών με δόσεις του εύρους τιμών που ορίζει την κατηγορία 5 (2000-5000 mg/kg) δεν συνιστάται και θα πρέπει να εξετάζεται μόνον εφόσον υπάρχουν μεγάλες πιθανότητες τα αποτελέσματα των δοκιμών αυτών να έχουν άμεση, σημασία για την προστασία της υγείας του ανθρώπου ή των ζώων (10). Δεν θα πρέπει να διεξάγονται άλλες δοκιμές με υψηλότερες δόσεις.

Εφόσον απαιτείται δοκιμή με δόση 5000 mg/kg, αυτή διεξάγεται σε μία μόνο βαθμίδα (δηλαδή, σε τρία ζώα). Εάν το πρώτο ζώο πεθάνει, το επόμενο βήμα είναι η χορήγηση 2000 mg/kg σύμφωνα με τα διαγράμματα ροής του παραρτήματος 1. Εάν το πρώτο ζώο επιζήσει, η δόση χορηγείται σε δύο ακόμη ζώα. Εάν πεθάνει μόνον ένα από τα δύο ζώα, τότε η τιμή LD_{50} αναμένεται να υπερβαίνει τα 5000 mg/kg. Εάν πεθάνουν και τα δύο, το επόμενο βήμα είναι η χορήγηση 2000 mg/kg.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 3

ΜΕΘΟΔΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ Β.1 τρις: Οδηγίες για την ταξινόμηση σύμφωνα με το σύστημα της ΕΕ κατά τη μεταβατική περίοδο μέχρι να εφαρμοστεί πλήρως το Παγκόσμιο Εναρμονισμένο Σύστημα Ταξινόμησης (GHS) (έχουν ληφθεί από τη δημοσίευση (8))

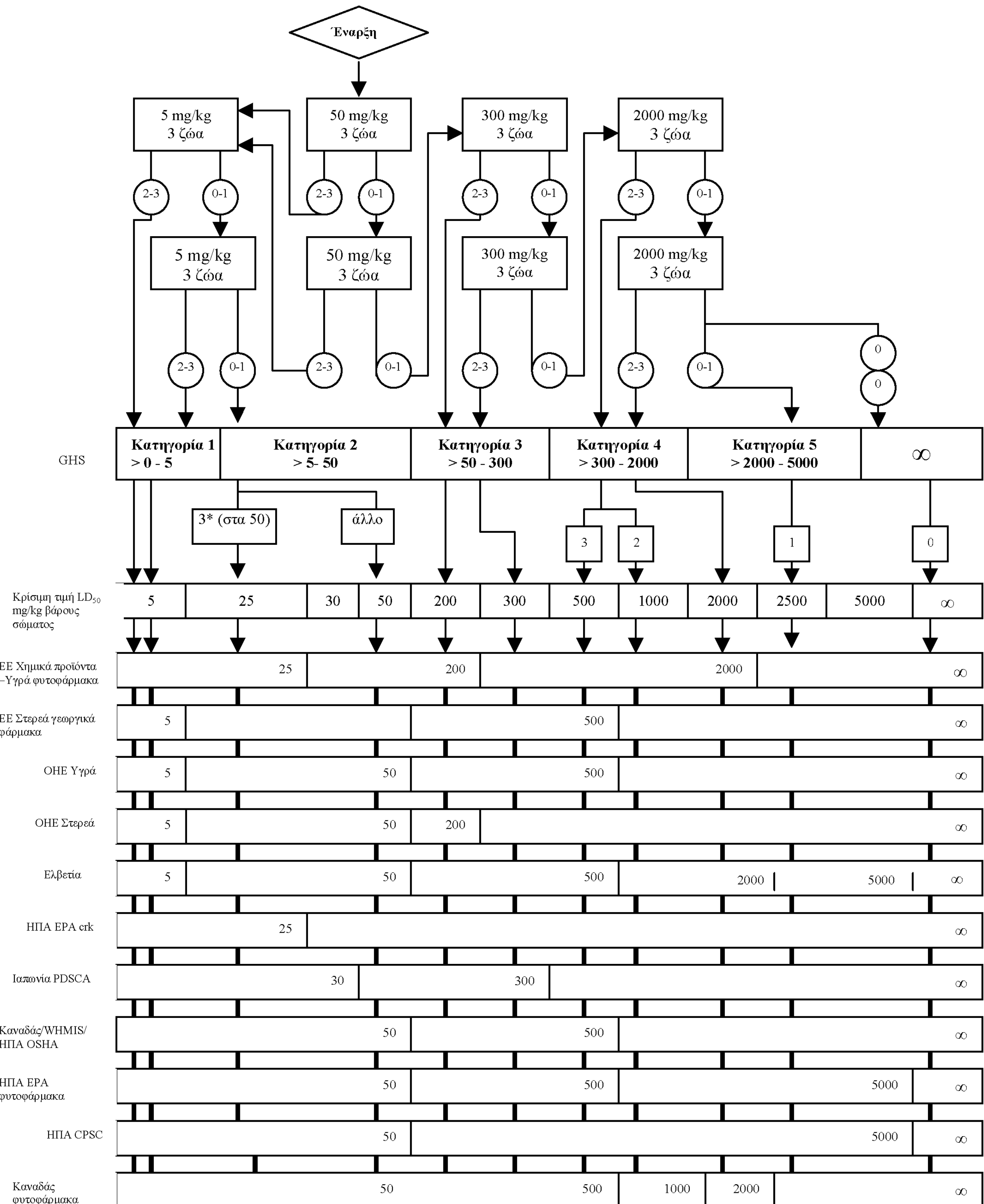


- Σε κάθε βαθμίδα χρησιμοποιούνται 3 ζώα του ίδιου φύλου (συνήθως θηλυκά).
- 0, 1, 2, 3: αριθμός ετοιμοθάνατων ή νεκρών ζώων σε κάθε βαθμίδα

- ∞: δεν ταξινομείται
- GHS: παγκόσμιο εναρμονισμένο σύστημα ταξινόμησης (mg/kg βάρους σώματος)

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 3 (ΣΥΝΕΧΕΙΑ 1)

ΜΕΘΟΔΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ Β.1 τρις: Οδηγίες για την ταξινόμηση σύμφωνα με το σύστημα της ΕΕ κατά τη μεταβατική περίοδο μέχρι να εφαρμοστεί πλήρως το Παγκόσμιο Εναρμονισμένο-Σύστημα Ταξινόμησης (GHS)
(έχουν ληφθεί από τη δημοσίευση (8))

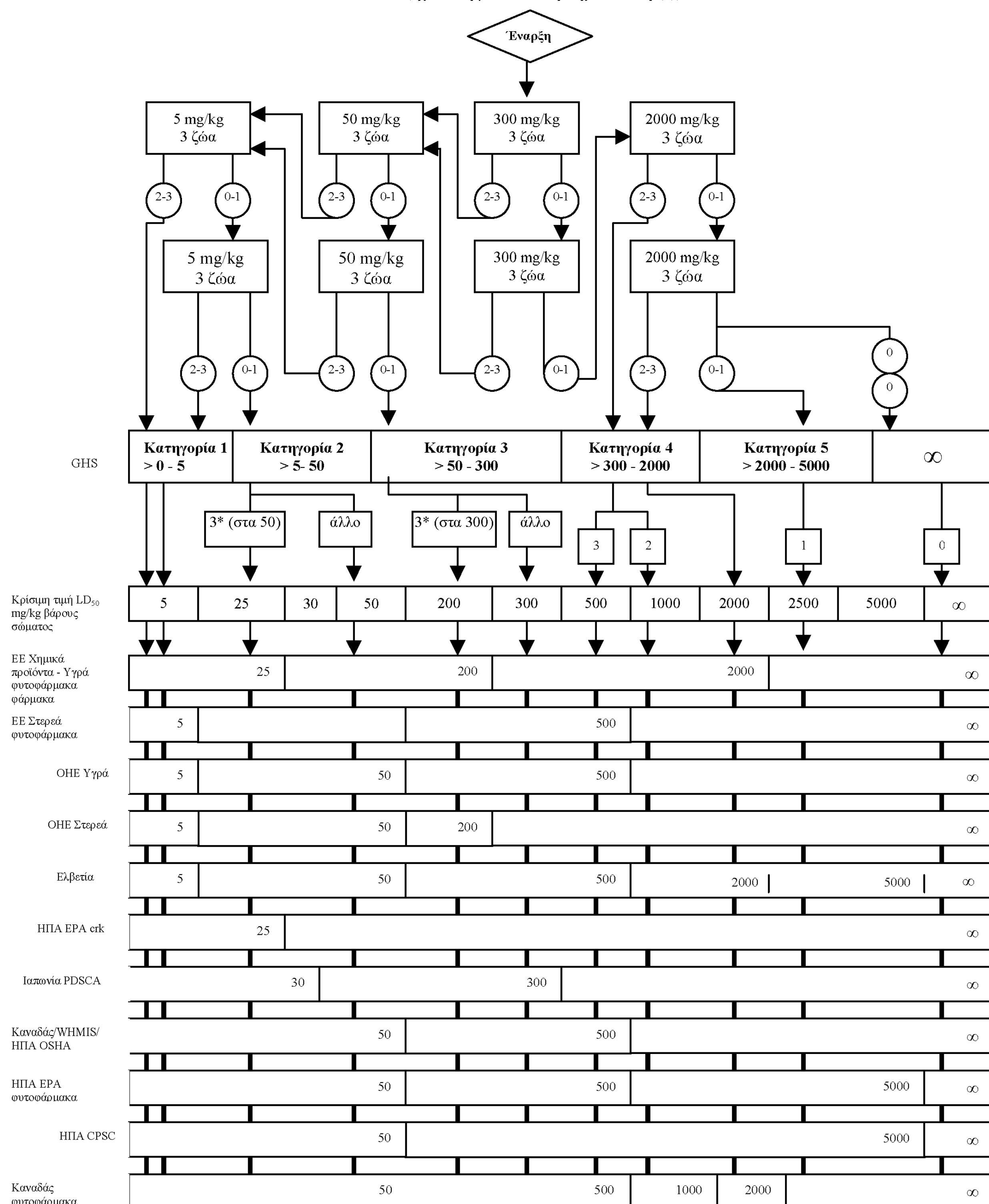


- Σε κάθε βαθμίδα χρησιμοποιούνται 3 ζώα του ίδιου φύλου (συνήθως θηλυκά).
- 0, 1, 2, 3: αριθμός ετοιμοθάνατων ή νεκρών ζώων σε κάθε βαθμίδα

- ∞: δεν ταξινομείται
- *: στην πρώτη βαθμίδα
- GHS: παγκόσμιο εναρμονισμένο σύστημα ταξινόμησης (mg/kg βάρους σώματος)

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 3 (ΣΥΝΕΧΕΙΑ 2)

ΜΕΘΟΔΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ Β.1 τρις: Οδηγίες για την ταξινόμηση σύμφωνα με το σύστημα της ΕΕ κατά τη μεταβατική περίοδο μέχρι να εφαρμοστεί πλήρως το Παγκόσμιο Εναρμονισμένο Σύστημα Ταξινόμησης (GHS) (έχουν ληφθεί από τη δημοσίευση (8))

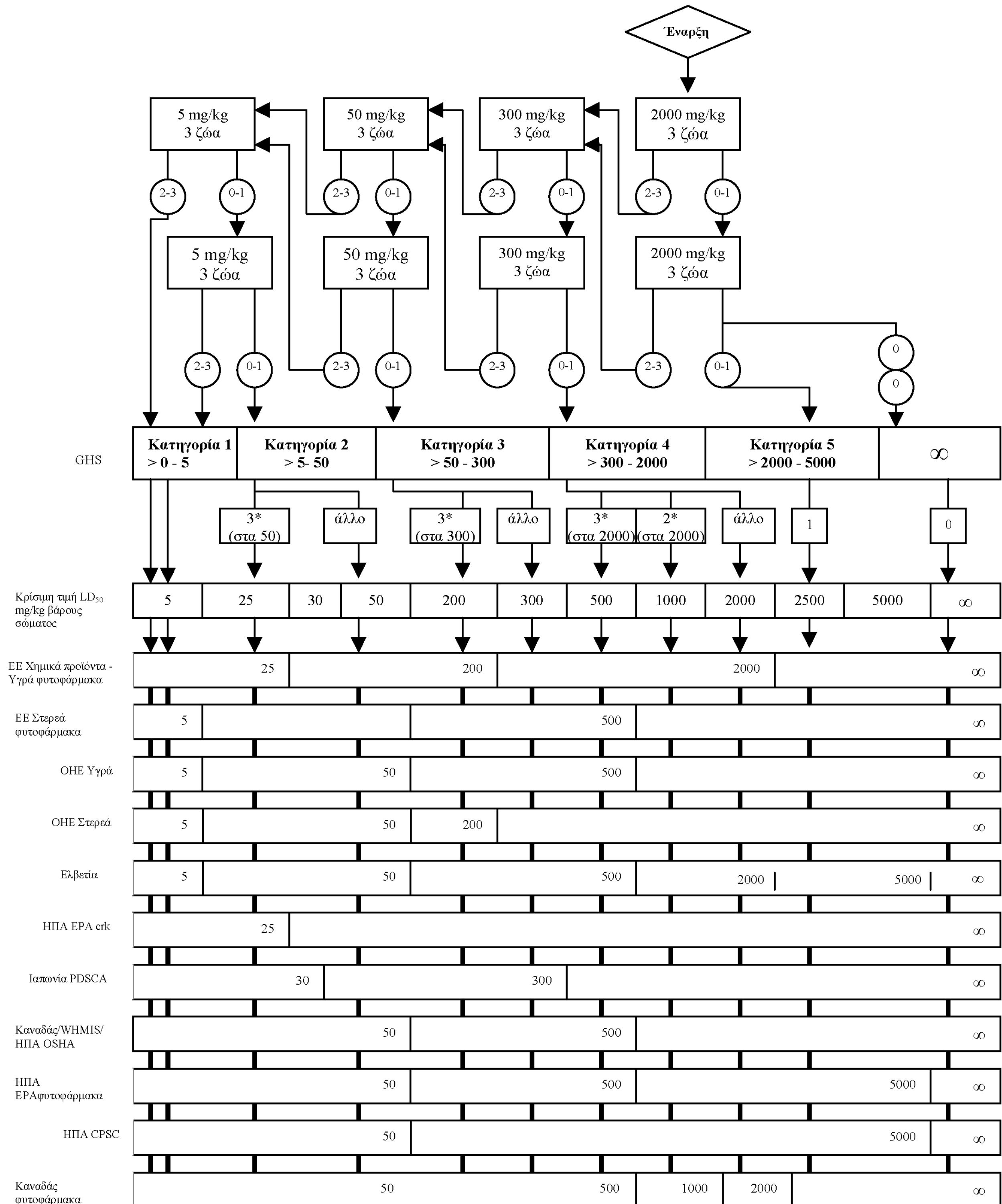


- Σε κάθε βαθμίδα χρησιμοποιούνται 3 ζώα του ίδιου φύλου (συνήθως θηλυκά).
- 0, 1, 2, 3: αριθμός ετοιμοθάνατων ή νεκρών ζώων σε κάθε βαθμίδα

- ∞: δεν ταξινομείται
- *: στην πρώτη βαθμίδα
- GHS: παγκόσμιο εναρμονισμένο σύστημα ταξινόμησης (mg/kg βάρους σώματος)

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 3 (ΣΥΝΕΧΕΙΑ 3)

ΜΕΘΟΔΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ Β.1 τρις: Οδηγίες για την ταξινόμηση σύμφωνα με το σύστημα της ΕΕ κατά τη μεταβατική περίοδο μέχρι να εφαρμοστεί πλήρως το Παγκόσμιο Εναρμονισμένο Σύστημα Ταξινόμησης (GHS) (έχουν ληφθεί από τη δημοσίευση (8))



- Σε κάθε βαθμίδα χρησιμοποιούνται 3 ζώα του ίδιου φύλου (συνήθως θηλυκά).
- 0, 1, 2, 3: αριθμός ετοιμοθάνατων ή νεκρών ζώων σε κάθε βαθμίδα

- ∞: δεν ταξινομείται
- *: στην πρώτη βαθμίδα
- GHS: παγκόσμιο εναρμονισμένο σύστημα ταξινόμησης (mg/kg βάρους σώματος)

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2Δ

B. 4. ΟΞΕΙΑ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ: ΕΡΕΘΙΣΜΟΣ/ΔΙΑΒΡΩΣΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

1. Η ΜΕΘΟΔΟΣ

Η παρούσα μέθοδος είναι ισοδύναμη με την κατευθυντήρια γραμμή δοκιμών TG 404 (2002) του ΟΟΣΑ

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Κατά την ανάπτυξη της παρούσας αναπροσαρμοσμένης μεθόδου, δόθηκε ιδιαίτερη προσοχή στις δυνατότητες βελτίωσης σε σχέση με τον προβληματισμό για τη μεταχείριση των ζώων, καθώς και στην αξιολόγηση όλων των διαθέσιμων στοιχείων σχετικά με τις ελεγχόμενες ουσίες, ώστε να μην διεξάγονται περιττές δοκιμές σε πειραματόζωα. Η μέθοδος περιλαμβάνει τη σύσταση να υποβάλλονται τα υφιστάμενα δεδομένα σε ανάλυση βάρους της μαρτυρίας, πριν από τη διεξαγωγή της περιγραφόμενης δοκιμής των ουσιών *in vivo* για διάβρωση/ερεθισμό. Εφόσον τα διαθέσιμα δεδομένα είναι ανεπαρκή, μπορούν να συμπληρώνονται με την εφαρμογή ακολουθιακού ελέγχου (1). Η συνιστώμενη στρατηγική δοκιμών περιλαμβάνει την εκτέλεση έγκυρων και αποδεκτών δοκιμασιών *in vitro* και παρατίθεται σε παράρτημα της παρούσας μεθόδου. Επιπλέον, όπου ενδείκνυται, συνιστάται η διαδοχική αντί της ταυτόχρονης εφαρμογή των τριών επιθεμάτων στο ζώο κατά την αρχική δοκιμή *in vivo*.

Προς όφελος τόσο της ορθότητας του επιστημονικού έργου, όσο και της πρόνοιας για τα ζώα, δεν θα πρέπει να διεξάγονται δοκιμές *in vivo*, πριν αξιολογηθούν, με ανάλυση βάρους της μαρτυρίας, όλα τα διαθέσιμα δεδομένα σχετικά με την πιθανή διαβρωτική/ερεθιστική επίδραση των ουσιών στο δέρμα. Τα εν λόγω δεδομένα περιλαμβάνουν στοιχεία από προηγούμενες μελέτες στον άνθρωπο ή/και σε πειραματόζωα, στοιχεία που υποδεικνύουν ότι μία ή περισσότερες ουσίες με ανάλογη χημική δομή ή μίγματα τέτοιων ουσιών προκαλούν διάβρωση/ερεθισμό, δεδομένα υψηλής οξύτητας ή αλκαλικότητας των ουσιών (2)(3) και αποτελέσματα έγκυρων και αποδεκτών δοκιμών *in vitro* ή *ex vivo* (4)(5)(5a). Η ανωτέρω ανάλυση αναμένεται να περιορίσει την ανάγκη διεξαγωγής δοκιμών *in vivo* για διαβρωτική/ερεθιστική επίδραση στο δέρμα, ουσιών για τις οποίες υπάρχουν ήδη επαρκή αποδεικτικά στοιχεία, προερχόμενα από άλλες μελέτες, όσον αφορά τα συγκεκριμένα δύο τελικά σημεία.

Σε παράρτημα της παρούσας μεθόδου παρατίθεται η προτιμώμενη στρατηγική διαδοχικών δοκιμών (ακολουθιακός έλεγχος), που περιλαμβάνει τη διεξαγωγή έγκυρων και αποδεκτών δοκιμών διάβρωσης/ερεθισμού *in vitro* ή *ex vivo*. Η στρατηγική αυτή διαμορφώθηκε σε ημερίδα του ΟΟΣΑ, προτάθηκε ομόφωνα από τους συνέδρους (6) και εγκρίθηκε ως συνιστώμενη στρατηγική δοκιμών στο Παγκόσμιο Εναρμονισμένο Σύστημα Ταξινόμησης Χημικών Ουσιών (Globally Harmonised System for the Classification of Chemical Substances/GHS) (7). Συνιστάται η εφαρμογή της εν λόγω στρατηγικής διαδοχικών δοκιμών πριν από τη διεξαγωγή δοκιμών *in vivo*. Προκειμένου για νέες ουσίες, αποτελεί τη συνιστώμενη κλιμακωτή προσέγγιση για τη συλλογή επιστημονικώς ορθών στοιχείων σχετικά με τη διαβρωτική/ερεθιστική δράση των ουσιών. Στην περίπτωση των υφισταμένων ουσιών, για τις οποίες δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία όσον αφορά τη δερματική διάβρωση/ερεθισμό, η στρατηγική θα πρέπει να χρησιμοποιείται για να συμπληρωθούν τα κενά στα δεδομένα. Η εφαρμογή διαφορετικής στρατηγικής ή διαδικασίας δοκιμών ή τυχόν απόφαση να μην εφαρμοστεί κλιμακωτή προσέγγιση δοκιμών θα πρέπει να αιτιολογείται.

Εάν ο διαβρωτικός ή ερεθιστικός χαρακτήρας δεν είναι δυνατόν να προσδιοριστεί με ανάλυση βάρους της μαρτυρίας σύμφωνα με τη στρατηγική διαδοχικών δοκιμών, τότε θα πρέπει να εξετάζεται το ενδεχόμενο διεξαγωγής δοκιμής *in vivo* (βλ. παράρτημα).

1.2 ΟΡΙΣΜΟΙ

Δερματικός ερεθισμός: είναι η πρόκληση αναστρέψιμων βλαβών του δέρματος μετά την εφαρμογή της ελεγχόμενης ουσίας για χρονικό διάστημα έως 4 ωρών.

Δερματική διάβρωση: είναι η πρόκληση μη αναστρέψιμης βλάβης του δέρματος, συγκεκριμένα εμφανούς νεκρώσεως που διαπερνά την επιδερμίδα φθάνοντας στο χόριο, μετά την εφαρμογή της ελεγχόμενης ουσίας για χρονικό διάστημα έως 4 ωρών. Τυπικές διαβρωτικές αντιδράσεις είναι τα έλκη, η αιμορραγία, οι εσχάρες αίματος και, στο τέλος της παρατήρησης μετά παρέλευση 14 ημερών, ο αποχρωματισμός λόγω λευκοδερμίας, επιφάνειες με τελεία αλωπεκία και ουλές. Για την αξιολόγηση αμφίβολων βλαβών, θα πρέπει να μελετάται το ενδεχόμενο ιστοπαθολογικής εξέτασης.

1.3 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΩΝ

Μία δόση της ελεγχόμενης ουσίας εφαρμόζεται εφάπαξ στο δέρμα ενός πειραματοζώου, ενώ το υπόλοιπο δέρμα του, που δεν έχει υποβληθεί σε αγωγή, χρησιμεύει ως μάρτυρας. Σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα, παρατηρείται η έκταση του ερεθισμού/της διάβρωσης, βαθμολογείται και περιγράφεται λεπτομερώς με σκοπό την πλήρη αξιολόγηση των επιδράσεων. Η διάρκεια της μελέτης θα πρέπει να είναι επαρκής για να εκτιμηθεί αν οι παρατηρούμενες επιδράσεις είναι αναστρέψιμες ή μη.

Τα ζώα που εμφανίζουν διαρκή σημεία έντονης δυσφορίας σε οποιοδήποτε στάδιο της δοκιμής ή/και πόνου θα πρέπει να θανατώνονται με ευθανασία, οπότε η ουσία αξιολογείται ανάλογα. Κριτήρια για τη λήψη απόφασης σχετικά με την ευθανασία ετοιμοθάνατων ή βαρέως πασχόντων ζώων παρέχονται στη δημοσίευση (8).

1.4 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΩΝ

1.4.1 **Προετοιμασία της δοκιμής *in vivo***

1.4.1.1 *Επιλογή είδους ζώων*

Το προτιμώμενο πειραματόζωο είναι το αλφικό κουνέλι και χρησιμοποιούνται υγιή νεαρά ενήλικα κουνέλια. Η χρήση άλλων ειδών ζώων θα πρέπει να αιτιολογείται.

1.4.1.2 *Προετοιμασία των ζώων*

Ένα 24ωρο περίπου πριν από τη δοκιμή, πρέπει να αφαιρείται με κουρά το τρίχωμα από τη ραχιαία επιφάνεια του κορμού των ζώων. Η κουρά πρέπει να εκτελείται με προσοχή για να αποφεύγεται η απόξεση του δέρματος. Πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο ζώα με υγιές, ανέπαφο δέρμα.

Μερικές φυλές κουνελιών έχουν νησίδες πυκνού τριχώματος, που είναι πιο ανεπτυγμένες ορισμένες εποχές του έτους. Οι ελεγχόμενες ουσίες δεν θα πρέπει να εφαρμόζονται σε αυτές τις επιφάνειες πυκνού τριχώματος.

1.4.1.3 *Συνθήκες στέγασης και διατροφής*

Τα ζώα πρέπει να στεγάζονται χωριστά. Για τα κουνέλια, η θερμοκρασία του θαλάμου πειραματοζώων πρέπει να είναι 20ºC (±3ºC). Αν και η σχετική υγρασία πρέπει να είναι τουλάχιστον 30% και, κατά προτίμηση, να μην υπερβαίνει το 70%, εκτός από τις περιόδους καθαρισμού του θαλάμου, εν τούτοις ο στόχος θα πρέπει να είναι μια τιμή 50-60%. Ο φωτισμός πρέπει να είναι τεχνητός, με εναλλαγή φωτός-σκότους ανά 12ωρο. Για τη διατροφή των ζώων μπορούν να χρησιμοποιούνται τα συνήθη εργαστηριακά σιτηρέσια, με απεριόριστη παροχή πόσιμου νερού.

1.4.2 **Διαδικασία δοκιμής**

1.4.2.1 *Εφαρμογή της ελεγχόμενης ουσίας*

Η ελεγχόμενη ουσία θα πρέπει να εφαρμόζεται σε μια μικρή επιφάνεια του δέρματος (περίπου 6 cm^2) και να καλύπτεται με ένα κομμάτι γάζας, το οποίο συγκρατείται στη θέση του με μη ερεθιστική ταινία. Σε περίπτωση όπου η απευθείας εφαρμογή δεν είναι εφικτή (π.χ. υγρά ή ορισμένες αλοιφές), θα πρέπει να τοποθετείται πρώτα η ελεγχόμενη ουσία στη γάζα και κατόπιν το σύνολο στο δέρμα. Το επίθεμα θα πρέπει να διατηρείται χαλαρά σε επαφή με το δέρμα με τη βοήθεια κατάλληλου ημιπερατού επιδέσμου σε όλη τη διάρκεια της περιόδου έκθεσης. Όταν η ελεγχόμενη ουσία τοποθετείται στη γάζα, το επίθεμα θα πρέπει να στερεώνεται στο δέρμα κατά τρόπον ώστε να εξασφαλίζεται καλή επαφή και ομοιόμορφη κατανομή της ουσίας στο δέρμα. Το ζώο θα πρέπει να μην μπορεί να φθάσει το επίθεμα, ώστε να μην υπάρχει κίνδυνος να καταπιεί/εισπνεύσει την ελεγχόμενη ουσία.

Οι υγρές ελεγχόμενες ουσίες χρησιμοποιούνται κατά κανόνα χωρίς να αραιωθούν. Όταν ελέγχονται στερεές ουσίες (που μπορούν να λειοτριβούνται, εάν κρίνεται αναγκαίο), θα πρέπει να υγραίνονται με την ελάχιστη ποσότητα νερού (ή, εάν είναι απαραίτητο, άλλου κατάλληλου φορέα) που εξασφαλίζει καλή επαφή με το δέρμα. Εφόσον χρησιμοποιείται άλλος φορέας πλην του νερού, η τυχόν επίδρασή του στο ερεθισμό του δέρματος από την ελεγχόμενη ουσία πρέπει να είναι αμελητέα.

Στο τέλος της περιόδου έκθεσης, που συνήθως διαρκεί τέσσερις ώρες, τα υπολείμματα της ελεγχόμενης ουσίας θα πρέπει να απομακρύνονται, εφόσον αυτό είναι πρακτικά εφικτό, με νερό ή κατάλληλο διαλύτη, χωρίς να αλλοιώνεται η υφιστάμενη απόκριση ούτε η ακεραιότητα της επιδερμίδας.

1.4.2.2 *Επίπεδα δόσεων*

Στο σημείο δοκιμής εφαρμόζονται εφάπαξ 0,5 ml υγρού ή 0,5 g στερεού ή αλοιφής.

1.4.2.3 *Αρχική δοκιμή (Δοκιμή δερματικού ερεθισμού/διάβρωσης in vivo σε ένα ζώο)*

Συνιστάται θερμά να διεξάγεται η δοκιμή *in vivo* πρώτα σε ένα μόνο ζώο, ιδίως όταν υπάρχουν υπόνοιες ότι η ουσία έχει διαβρωτικές ιδιότητες, σύμφωνα και με τη στρατηγική διαδοχικών δοκιμών (βλ. παράρτημα 1).

Όταν κρίνεται, με βάση ανάλυση βάρους της μαρτυρίας, ότι μια ουσία είναι διαβρωτική, δεν χρειάζονται περαιτέρω δοκιμές σε ζώα. Οι περισσότερες από τις ουσίες για τις οποίες υπάρχουν υπόνοιες ότι είναι διαβρωτικές δεν χρειάζεται κατά κανόνα να υποβάλλονται σε περαιτέρω δοκιμές *in vivo*. Ωστόσο, σε περίπτωση όπου θεωρείται σκόπιμο να συγκεντρωθούν συμπληρωματικά δεδομένα, επειδή τα υπάρχοντα είναι ανεπαρκή, μπορούν να διεξάγονται περιορισμένης έκτασης δοκιμές σε ζώα με την ακόλουθη προσέγγιση: Στο ζώο εφαρμόζονται διαδοχικά τρία επιθέματα κατ' ανώτατο όριο. Το πρώτο αφαιρείται μετά από τρία λεπτά. Εάν δεν παρατηρηθεί καμία σοβαρή δερματική αντίδραση, εφαρμόζεται δεύτερο επίθεμα, το οποίο αφαιρείται μετά από μία ώρα. Εάν οι παρατηρήσεις στο στάδιο αυτό υποδεικνύουν ότι η έκθεση του ζώου μπορεί να παραταθεί ανώδυνα για τέσσερις ώρες, εφαρμόζεται τρίτο επίθεμα, το οποίο αφαιρείται μετά από τέσσερις ώρες, και διαβαθμίζεται η απόκριση.

Εάν μετά οποιοδήποτε από τα τρία διαδοχικά στάδια έκθεσης παρατηρηθεί διαβρωτική επίδραση, η δοκιμή τερματίζεται αμέσως. Εάν δεν παρατηρηθεί διαβρωτική επίδραση μετά την αφαίρεση του τελευταίου επιθέματος, το ζώο παραμένει υπό παρατήρηση για 14 ημέρες, εκτός εάν εκδηλωθεί διάβρωση νωρίτερα.

Στις περιπτώσεις όπου η ελεγχόμενη ουσία δεν αναμένεται να προκαλέσει διάβρωση, αλλά ενδέχεται να είναι ερεθιστική, θα πρέπει να εφαρμόζεται ένα μόνο επίθεμα σε ένα ζώο για 4 ώρες.

1.4.2.4 *Επιβεβαιωτική δοκιμή (δοκιμή δερματικού ερεθισμού in vivo σε επιπλέον ζώα)*

Εάν δεν έχει παρατηρηθεί διαβρωτική επίδραση κατά την αρχική δοκιμή, η ερεθιστική ή αρνητική απόκριση θα πρέπει να επιβεβαιώνεται με χρήση έως δύο επιπλέον ζώων, στο καθένα από τα οποία εφαρμόζεται ένα επίθεμα για περίοδο έκθεσης 4 ωρών. Εάν κατά την αρχική δοκιμή έχει παρατηρηθεί ερεθιστική επίδραση, η επιβεβαιωτική δοκιμή μπορεί να διεξαχθεί με διαδοχική ή ταυτόχρονη έκθεση των δύο επιπλέον ζώων. Στην εξαιρετική περίπτωση όπου δεν έχει διεξαχθεί η αρχική δοκιμή, είναι δυνατόν να υποβληθούν σε αγωγή δύο ή τρία ζώα με ένα μόνον επίθεμα, το οποίο αφαιρείται μετά από 4 ώρες. Όταν χρησιμοποιούνται δύο ζώα και εμφανίζουν και τα δύο την ίδια απόκριση, δεν χρειάζονται άλλες δοκιμές. Στην αντίθετη περίπτωση, υποβάλλεται στη δοκιμή και το τρίτο ζώο. Για την αξιολόγηση αμφίβολων αποκρίσεων ενδέχεται να απαιτηθούν περισσότερα ζώα.

1.4.2.5 *Περίοδος παρατήρησης*

Η διάρκεια της περιόδου παρατήρησης θα πρέπει να είναι επαρκής για να εκτιμηθεί πλήρως κατά πόσον οι παρατηρούμενες επιδράσεις είναι αναστρέψιμες. Παρόλα αυτά, το πείραμα θα πρέπει να τερματίζεται αμέσως μόλις το ζώο εμφανίσει διαρκή σημεία ισχυρού πόνου ή δυσφορίας. Για να κριθεί αν οι επιδράσεις είναι αναστρέψιμες, τα ζώα θα πρέπει να παρατηρούνται για χρονικό διάστημα έως14 ημερών μετά την αφαίρεση των επιθεμάτων. Εάν διαπιστωθεί ότι είναι αναστρέψιμες πριν παρέλθουν 14 ημέρες, το πείραμα θα πρέπει να τερματίζεται τη συγκεκριμένη στιγμή.

1.4.2.6 *Κλινικές παρατηρήσεις και διαβάθμιση των δερματικών αντιδράσεων*

Όλα τα ζώα θα πρέπει να εξετάζονται για σημεία ερυθήματος και οιδήματος και η οι απόκρισεις να διαβαθμίζονται σε 60 λεπτά και, κατόπιν, σε 24, 48 και 72 ώρες από την αφαίρεση του επιθέματος. Κατά την αρχική δοκιμή σε ένα ζώο, εξετάζεται επίσης το σημείο εφαρμογής του επιθέματος αμέσως μετά την αφαίρεσή του. Οι δερματικές αντιδράσεις βαθμολογούνται και καταγράφονται σύμφωνα με το σύστημα του παρακάτω πίνακα. Εάν σε 72 ώρες παρατηρηθεί βλάβη του δέρματος που δεν είναι δυνατόν να χαρακτηριστεί ερεθισμός ή διάβρωση, μπορεί να χρειάζεται να συνεχιστεί η παρατήρηση μέχρι τη 14η ημέρα για να κριθεί αν οι επιδράσεις είναι αναστρέψιμες. Εκτός από την παρατήρηση του ερεθισμού, θα πρέπει να περιγράφονται πλήρως και να καταγράφονται όλες οι τοπικές τοξικές επιδράσεις, λόγου χάριν απολίπανση του δέρματος, και οι τυχόν συστημικές δυσμενείς επιδράσεις (π.χ., στα κλινικά συμπτώματα τοξικότητας και στο βάρος του σώματος). Για τη διασαφήνιση αμφίβολων αποκρίσεων, θα πρέπει να μελετάται το ενδεχόμενο ιστοπαθολογικής εξέτασης.

Η διαβάθμιση των δερματικών αποκρίσεων είναι κατ' ανάγκην υποκειμενική. Για να διευκολυνθεί η εναρμονισμένη διαβάθμιση των δερματικών αποκρίσεων και να βοηθηθούν, αφενός τα εργαστήρια δοκιμών και, αφετέρου, το προσωπικό που εκτελεί και ερμηνεύει τις παρατηρήσεις, απαιτείται κατάλληλη εκπαίδευση του εν λόγω προσωπικού στο χρησιμοποιούμενο σύστημα βαθμολόγησης (βλ. πίνακα παρακάτω). Χρήσιμος είναι επίσης ένας εικονογραφημένος οδηγός ιεράρχησης του ερεθισμού και άλλων βλαβών του δέρματος (9).

2. **ΔΕΔΟΜΕΝΑ**

2.1 ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Τα αποτελέσματα της μελέτης θα πρέπει να συνοψίζονται σε πίνακα της τελικής έκθεσης δοκιμής και να καλύπτουν όλα τα στοιχεία που απαριθμούνται στην παράγραφο 3.1.

2.2 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Η βαθμολογία του δερματικού ερεθισμού θα πρέπει να αξιολογείται σε συνδυασμό με το είδος και τη σοβαρότητα των βλαβών, καθώς και με το κατά πόσον αυτές είναι αναστρέψιμες. Οι επιμέρους βαθμοί δεν αντιπροσωπεύουν ένα απόλυτο πρότυπο για τις ερεθιστικές ιδιότητες ενός υλικού, δεδομένου ότι αξιολογούνται και άλλες επιδράσεις των ελεγχόμενων ουσιών. Αντίθετα, θα πρέπει να θεωρούνται ως τιμές αναφοράς, οι οποίες πρέπει να συνεκτιμώνται με όλες τις υπόλοιπες παρατηρήσεις της μελέτης.

Κατά την αξιολόγηση των ερεθιστικών αποκρίσεων, θα πρέπει να εξετάζεται αν οι βλάβες του δέρματος είναι αναστρέψιμες. Εφόσον αποκρίσεις όπως αλωπεκία (περιορισμένη επιφάνεια), υπερκεράτωση, υπερπλασία και απολέπιση επιμένουν μέχρι το τέλος της 14ήμερης περιόδου παρατήρησης, η ελεγχόμενη ουσία θα πρέπει να θεωρείται ερεθιστική.

3. **ΈΚΘΕΣΗ**

3.1 ΕΚΘΕΣΗ ΔΟΚΙΜΗΣ

Η έκθεση δοκιμής πρέπει να περιλαμβάνει τα ακόλουθα στοιχεία:

Αιτιολόγηση της διεξαγωγής δοκιμής *in vivo*: ανάλυση βάρους της μαρτυρίας των δεδομένων που προϋπήρχαν, συμπεριλαμβανομένων των αποτελεσμάτων της στρατηγικής διαδοχικών δοκιμών:

- περιγραφή των σχετικών δεδομένων που έχουν προκύψει από προηγούμενες δοκιμές·
- δεδομένα που προέκυψαν σε κάθε στάδιο της στρατηγικής δοκιμών·
- περιγραφή των δοκιμών *in vitro* που πραγματοποιήθηκαν, με λεπτομέρειες για τις διαδικασίες και τα αποτελέσματα που ελήφθησαν με τις ουσίες ελέγχου/αναφοράς·
- ανάλυση βάρους της μαρτυρίας προκειμένου να διεξαχθεί μελέτη *in vivo*.

Ελεγχόμενη ουσία:

- στοιχεία ταυτότητας (π.χ. αριθ. CAS, πηγή, καθαρότητα, γνωστές ξένες προσμίξεις, αριθμός παρτίδας)·
- φυσική κατάσταση και φυσικοχημικές ιδιότητες (π.χ. pH, πτητικότητα, διαλυτότητα, σταθερότητα)·
- προκειμένου για μίγματα, σύνθεση και εκατοστιαία αναλογία των συστατικών.

Φορέας:

- στοιχεία ταυτότητας, συγκέντρωση (κατά περίπτωση), όγκος που χρησιμοποιήθηκε·
- αιτιολόγηση της επιλογής του φορέα.

Πειραματόζωα δοκιμής:

- είδος/φυλή που χρησιμοποιήθηκε, αιτιολόγηση της χρήσης άλλων ζώων αντί αλφικών κουνελιών·
- αριθμός ζώων κάθε φύλου·
- βάρος κάθε ζώου στην αρχή και στο τέλος της δοκιμής·
- ηλικία κατά την έναρξη της μελέτης·
- προέλευση των ζώων, συνθήκες στέγασης, σιτηρέσιο κλπ..

Συνθήκες δοκιμής:

- τεχνική προετοιμασίας του σημείου εφαρμογής των επιθεμάτων·
- λεπτομέρειες για τα υλικά των επιθεμάτων και την τεχνική εφαρμογής τους·
- λεπτομέρειες για την παρασκευή, την εφαρμογή και την απομάκρυνση της ελεγχόμενης ουσίας.

Αποτελέσματα:

- καταχώρηση σε πίνακα των βαθμών ερεθιστικής/διαβρωτικής απόκρισης για κάθε ζώο σε κάθε χρονική στιγμή μέτρησης·
- περιγραφή όλων των βλαβών που παρατηρήθηκαν·
- αναλυτική περιγραφή του είδους και της έκτασης του ερεθισμού ή της διάβρωσης που παρατηρήθηκε, καθώς και τυχόν παθολογοανατομικών ευρημάτων·
- περιγραφή άλλων δυσμενών τοπικών επιδράσεων εκτός από δερματικό ερεθισμό ή διάβρωση (π.χ. απολίπανση του δέρματος) και τυχόν συστημικών επιδράσεων.

Συζήτηση των αποτελεσμάτων

4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

(1) Barratt, M.D., Castell, J.V., Chamberlain, M., Combes, R.D., Dearden, J.C., Fentem, J.H., Gerner, I., Giuliani, A., Gray, T.J.B., Livingston, D.J., Provan, W.M., Rutten, F.A.J.J.L., Verhaar, H.J.M., Zbinden, P. (1995) The Integrated Use of Alternative Approaches for Predicting Toxic Hazard. ECVAM Workshop Report 8. ATLA 23, 410 - 429.

(2) Young, J.R., How, M.J., Walker, A.P., Worth W.M.H. (1988) Classification as Corrosive or Irritant to Skin of Preparations Containing Acidic or Alkaline Substance Without Testing on Animals. Toxicol. *In Vitro*, 2, 19 - 26.

(3) Worth, A.P., Fentem, J.H., Balls, M., Botham, P.A., Curren, R.D., Earl, L.K., Esdaile, D.J., Liebsch, M. (1998) Evaluation of the proposed OECD Testing Strategy for skin corrosion. ATLA 26, 709-720.

(4) ECETOC (1990) Monograph No. 15, "Skin Irritation", European Chemical Industry, Ecology and Toxicology Centre, Brussels.

(5) Fentem, J.H., Archer, G.E.B., Balls, M., Botham, P.A., Curren, R.D., Earl, L.K., Esdaile, D.J., Holzhutter, H.G. and Liebsch, M. (1998) The ECVAM international validation study on in vitro tests for skin corrosivity. 2. Results and evaluation by the Management Team. Toxicology in Vitro 12, pp.483 – 524.

(5a) Μέθοδος Β.40 Διάβρωση του δέρματος.

(6) ΟΟΣΑ (1996) OECD Test Guidelines Programme: Final Report of the OECD Workshop on Harmonization of Validation and Acceptance Criteria for Alternative Toxicological Test Methods. Solna, Σουηδία, 22-24 Ιανουαρίου 1996 (http://www1.oecd.org/ehs/test/background.htm)

(7) ΟΟΣΑ (1998) Εναρμονισμένο Ολοκληρωμένο Σύστημα Ταξινόμησης Κινδύνων για τις Επιδράσεις των Χημικών Ουσιών στην Υγεία του ανθρώπου και στο Περιβάλλον, το οποίο εγκρίθηκε από την 28η κοινή συνεδρίαση της επιτροπής χημικών προϊόντων και της ομάδας εργασίας για τα χημικά προϊόντα, το Νοέμβριο του 1998 (http://www1.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm).

(8) OECD (2000). Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. OECD Environmental Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment No. 19 (http://www1.oecd.org/ehs/test/monos.htm).

(9) EPA (1990). Atlas of Dermal Lesions, *(20T-2004)*. United States Environmental Protection Agency, Office of Pesticides and Toxic Substances, Washington, DC, August 1990.
[Διατίθεται κατόπιν αιτήσεως από τη Γραμματεία του ΟΟΣΑ].

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι: ΔΙΑΒΑΘΜΙΣΗ ΤΩΝ ΔΕΡΜΑΤΙΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΩΝ

Ερύθημα και σχηματισμός εσχάρας

Κανένα ερύθημα 0
Πολύ ελαφρό ερύθημα (μόλις αντιληπτό) 1
Περιγεγραμμένο ερύθημα 2
Μέτριο έως σοβαρό ερύθημα 3
Σοβαρό ερύθημα (ερυθρότητα βοείου κρέατος) έως σχηματισμός εσχάρας που εμποδίζει τη διαβάθμιση του ερυθήματος 4

Μέγιστος δυνατός βαθμός: 4

Οίδημα

Κανένα οίδημα 0
Πολύ ελαφρό οίδημα (μόλις αντιληπτό) 1
Ελαφρό οίδημα (περιγεγραμμένα χείλη με σαφή διόγκωση) 2
Μέτριο οίδημα (διόγκωση 1 mm περίπου) 3
Σοβαρό οίδημα (διόγκωση άνω του 1 mm εκτεινόμενη πέραν της επιφάνειας έκθεσης) 4

Μέγιστος δυνατός βαθμός: 4

Για τη διασαφήνιση αμφίβολων αποκρίσεων είναι δυνατόν να γίνει ιστοπαθολογική εξέταση.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Στρατηγική διαδοχικών δοκιμών (ακολουθιακός έλεγχος) για ερεθισμό και διάβρωση του δέρματος

ΓΕΝΙΚΗ ΘΕΩΡΗΣΗ

Προς όφελος τόσο της ποιότητας του επιστημονικού έργου, όσο και της πρόνοιας για τα ζώα, έχει μεγάλη σημασία να αποφεύγεται η περιττή χρήση πειραματοζώων και να ελαχιστοποιείται η διεξαγωγή δοκιμών που είναι πιθανόν να τους προκαλέσουν σοβαρές αντιδράσεις. Πριν αντιμετωπιστεί το ενδεχόμενο διεξαγωγής δοκιμών *in vivo*, θα πρέπει να αξιολογούνται όλα τα στοιχεία που αφορούν τις πιθανές διαβρωτικές/ερεθιστικές επιδράσεις των ουσιών στο δέρμα. Ενδέχεται να υπάρχουν ήδη μαρτυρίες που αρκούν για τη ταξινόμηση της ελεγχόμενης ουσίας από πλευράς διαβρωτικής ή ερεθιστικής για το δέρμα ικανότητας, χωρίς να χρειάζονται δοκιμές σε πειραματόζωα. Η εφαρμογή επομένως της ανάλυσης βάρους της μαρτυρίας και μιας στρατηγικής διαδοχικών δοκιμών ελαχιστοποιεί την ανάγκη διεξαγωγής δοκιμών *in vivo*, ιδίως εάν πιθανολογείται ότι η ουσία προκαλεί σοβαρές αντιδράσεις.

Συνιστάται η χρήση της ανάλυσης βάρους της μαρτυρίας για την αξιολόγηση των διαθέσιμων στοιχείων σχετικά με τη διάβρωση και τον ερεθισμό του δέρματος από την εκάστοτε ουσία, προκειμένου να κριθεί αν πρέπει να διεξαχθούν συμπληρωματικές μελέτες, πλην δερματικών μελετών *in vivo*, για να βοηθήσουν στο χαρακτηρισμό των συγκεκριμένων ιδιοτήτων. Εφόσον χρειάζονται περαιτέρω μελέτες, συνιστάται η εφαρμογή της στρατηγικής διαδοχικών δοκιμών για τη συλλογή των σχετικών πειραματικών δεδομένων. Στην περίπτωση των ουσιών που δεν έχουν υποβληθεί σε δοκιμές στο παρελθόν, η στρατηγική διαδοχικών δοκιμών θα πρέπει να χρησιμοποιείται για τη συλλογή του συνόλου δεδομένων που απαιτεί η αξιολόγηση της διαβρωτικής/ερεθιστικής για το δέρμα ικανότητας των ουσιών. Η στρατηγική δοκιμών που περιγράφεται στο παρόν παράρτημα διαμορφώθηκε σε ημερίδα του ΟΟΣΑ (1) και, στη συνέχεια, επικυρώθηκε και διευρύνθηκε στο Εναρμονισμένο Ολοκληρωμένο Σύστημα Ταξινόμησης Κινδύνων για τις Επιδράσεις των Χημικών Ουσιών στην Υγεία του ανθρώπου και στο Περιβάλλον, το οποίο εγκρίθηκε από την 28η κοινή συνεδρίαση της επιτροπής χημικών προϊόντων και της ομάδας εργασίας για τα χημικά προϊόντα, το Νοέμβριο του 1998 (2).

Η παρούσα στρατηγική διαδοχικών δοκιμών δεν αποτελεί αναπόσπαστο μέρος της μεθόδου δοκιμών Β.4, αλλά έκφραση της συνιστώμενης προσέγγισης για τον προσδιορισμό των ερεθιστικών/διαβρωτικών για το δέρμα χαρακτηριστικών. Η προσέγγιση αυτή αντιπροσωπεύει, αφενός την ορθή πρακτική και, αφετέρου, ένα δεοντολογικό σημείο αναφοράς για τη διεξαγωγή δοκιμών δερματικής διάβρωσης/ερεθισμού *in vivo*. Η μεθοδολογία δοκιμών παρέχει κατευθύνσεις για τη διεξαγωγή της δοκιμής *in vivo* και συγκεφαλαιώνει τους παράγοντες που θα πρέπει να εξετάζονται πριν αρχίσει μια τέτοια δοκιμή. Η στρατηγική παρέχει μια προσέγγιση για την αξιολόγηση των διαθέσιμων δεδομένων σχετικά με τις ερεθιστικές/διαβρωτικές για το δέρμα ιδιότητες των ελεγχόμενων ουσιών, καθώς και μια κλιμακωτή προσέγγιση για τη συλλογή των σχετικών δεδομένων στην περίπτωση των ουσιών για τις οποίες χρειάζονται συμπληρωματικές δοκιμές ή δεν έχουν διεξαχθεί δοκιμές. Η εν λόγω στρατηγική υποδεικνύει, επίσης, τη διεξαγωγή, σε συγκεκριμένες περιστάσεις, έγκυρων και αποδεκτών δοκιμών *in vitro* ή *ex vivo* για διάβρωση/ερεθισμό του δέρματος.

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΚΑΙ ΤΙΣ ΔΟΚΙΜΕΣ

Πριν από τη διεξαγωγή δοκιμών στο πλαίσιο της στρατηγικής διαδοχικών δοκιμών (βλ. διάγραμμα), θα πρέπει να αξιολογούνται όλα τα διαθέσιμα στοιχεία, προκειμένου να κριθεί αν είναι αναγκαίο να διεξαχθούν δερματικές δοκιμές *in vivo*. Αν και είναι δυνατόν να προκύψουν σημαντικά στοιχεία από την αξιολόγηση μεμονωμένων παραμέτρων (π.χ. ακραίες τιμές pH), θα πρέπει παρόλα αυτά να εξετάζεται το σύνολο των διαθέσιμων στοιχείων. Προκειμένου να ληφθεί απόφαση με βάση ανάλυση βάρους της μαρτυρίας, θα πρέπει να αξιολογούνται όλα τα σημαντικά δεδομένα που αφορούν τις επιδράσεις της εκάστοτε ουσίας ή των αναλόγων της, και η απόφαση αυτή θα πρέπει να αιτιολογείται. Θα πρέπει να δίδεται έμφαση πρωτίστως στα διαθέσιμα δεδομένα για τις επιδράσεις των ουσιών στον άνθρωπο και στα ζώα και, κατόπιν, στα αποτελέσματα δοκιμών *in vitro* ή *ex vivo*. Θα πρέπει να αποφεύγονται, στο μέτρο του δυνατού, οι μελέτες διαβρωτικών ουσιών *in vivo*. Οι παράγοντες που λαμβάνονται υπόψη στη στρατηγική δοκιμών περιλαμβάνουν:

Αξιολόγηση διαθέσιμων δεδομένων για τον άνθρωπο και τα ζώα (Στάδιο 1). Πρώτα θα πρέπει να εξετάζονται τα υφιστάμενα δεδομένα που αφορούν τον άνθρωπο, π.χ. από κλινικές μελέτες ή μελέτες επαγγελματικής έκθεσης και αναφορές περιστατικών, ή/και τα δεδομένα δοκιμών σε ζώα, π.χ. από μελέτες τοξικότητας με εφάπαξ ή επανειλημμένη δερματική έκθεση, επειδή αυτά παρέχουν πληροφορίες που αφορούν άμεσα τις δερματικές επιδράσεις. Οι ουσίες που είναι γνωστά ερεθιστικά ή διαβρωτικά, όπως και εκείνες για τις οποίες υπάρχουν σαφείς αποδείξεις απουσίας διαβρωτικής ή ερεθιστικής ικανότητας, δεν χρειάζεται να υποβάλλονται σε δοκιμές *in vivo*.

Ανάλυση της σχέσης δομής-δραστικότητας (SAR) (Στάδιο 2). Εάν υπάρχουν αποτελέσματα δοκιμών στις οποίες έχουν υποβληθεί ουσίες με παρεμφερή χημική δομή, θα πρέπει να εξετάζονται. Εφόσον τα διαθέσιμα δεδομένα για την επίδραση στον άνθρωπο ή/και στα ζώα ουσιών με παρεμφερή χημική δομή ή μιγμάτων τέτοιων ουσιών αρκούν για να καταδειχθεί η διαβρωτική/ερεθιστική για το δέρμα ικανότητα των τελευταίων, μπορεί να υποτεθεί ότι η ελεγχόμενη ουσία προκαλεί την ίδια απόκριση. Στις περιπτώσεις αυτές, η ελεγχόμενη ουσία δεν χρειάζεται να υποβληθεί σε δοκιμή. Τα αρνητικά δεδομένα από μελέτες ουσιών με παρεμφερή χημική δομή ή μιγμάτων τέτοιων ουσιών δεν αποτελούν, βάσει της στρατηγικής διαδοχικών δοκιμών, επαρκή απόδειξη της απουσίας διαβρωτικής/ερεθιστικής ικανότητας μιας ουσίας. Για τον προσδιορισμό τόσο της διαβρωτικής όσο και της ερεθιστικής ικανότητας στο δέρμα θα πρέπει να χρησιμοποιούνται έγκυρες και αποδεκτές προσεγγίσεις SAR.

Φυσικοχημικές ιδιότητες και χημική δραστικότητα (Στάδιο 3). Οι ουσίες που εμφανίζουν ακραίες τιμές pH, όπως ≤2.0 και ≥11,5, είναι δυνατόν να έχουν ισχυρές τοπικές επιδράσεις.. Εάν το ακραίο pH χρησιμοποιείται ως βάση για το χαρακτηρισμό μιας ουσίας ως διαβρωτικής για το δέρμα, τότε μπορεί να λαμβάνεται υπόψη η δεσμευμένη οξύτητα/αλκαλικότητα (ή ρυθμιστική ικανότητα) (3)(4). Εάν η ρυθμιστική ικανότητα υποδεικνύει ότι η ουσία μπορεί να μην είναι διαβρωτικό του δέρματος, η ένδειξη αυτή θα πρέπει να επιβεβαιώνεται με τη διεξαγωγή περαιτέρω δοκιμών, κατά προτίμηση έγκυρων και αποδεκτών δοκιμών *in vitro* ή *ex vivo* (βλ. στάδια 5 και 6).

Τοξικότητα μέσω του δέρματος (Στάδιο 4). Εάν μια χημική ουσία έχει αποδειχθεί πολύ τοξική από τη δερματική οδό, ενδέχεται να μην είναι πρακτικά εφικτό να διεξαχθεί μελέτη δερματικού ερεθισμού/διάβρωσης *in vivo*, επειδή η συνήθως εφαρμοζόμενη ποσότητα ελεγχόμενης ουσίας μπορεί να υπερβαίνει την πολύ τοξική δόση, προκαλώντας το θάνατο ή μεγάλη ταλαιπωρία των ζώων. Επιπλέον, εάν έχουν ήδη διεξαχθεί μελέτες τοξικότητας μέσω του δέρματος σε αλφικά κουνέλια, με δόσεις που φθάνουν μέχρι το οριακό επίπεδο των 2000 mg/kg βάρους σώματος ή και μεγαλύτερες, και δεν έχει διαπιστωθεί ερεθισμός ούτε διάβρωση του δέρματος, μπορεί να μην χρειάζονται πρόσθετες δοκιμές δερματικού ερεθισμού/διάβρωσης. Κατά την αξιολόγηση των δεδομένων οξείας τοξικότητας μέσω του δέρματος που έχουν προκύψει από παλαιότερες μελέτες, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη ορισμένες παράμετροι, όπως: τα στοιχεία για τις βλάβες του δέρματος που έχουν αναφερθεί μπορεί να είναι ελλιπή· οι δοκιμές και οι παρατηρήσεις μπορεί να αφορούν άλλα είδη και όχι κουνέλια, ενώ υπάρχουν ενδεχομένως μεγάλες διαφορές μεταξύ των ειδών ως προς την ευαισθησία της απόκρισης· επίσης, η μορφή με την οποία χορηγήθηκε η ουσία στα ζώα μπορεί να μην είναι κατάλληλη για τη εκτίμηση του ερεθισμού ή της διάβρωσης του δέρματος (π.χ. αραίωση των ουσιών στις δοκιμές τοξικότητας μέσω του δέρματος (5). Στις περιπτώσεις, όμως, που σχεδιάσθηκαν και διεξάχθησαν άρτια μελέτες τοξικότητας μέσω του δέρματος σε κουνέλια, τα αρνητικά ευρήματα μπορούν να θεωρηθούν επαρκής απόδειξη του ότι μια ουσία δεν είναι διαβρωτική ή ερεθιστική.

Αποτελέσματα δοκιμών in vitro ή ex vivo (Στάδια 5 και 6). Οι ουσίες που έχουν εμφανίσει διαβρωτικές ή ισχυρές ερεθιστικές ιδιότητες σε έγκυρες και αποδεκτές δοκιμές *in vitro ή ex vivo* (6)(7), οι οποίες έχουν σχεδιασθεί για την αξιολόγηση των συγκεκριμένων επιδράσεων, δεν χρειάζεται να ελέγχονται με δοκιμές σε ζώα· τεκμαίρεται ότι οι εν λόγω ουσίες θα έχουν ανάλογες σοβαρές επιδράσεις και *in vivo*.

Δοκιμή in vivo σε κουνέλια (Στάδια 7 και 8). Εφόσον, με βάση ανάλυση βάρους της μαρτυρίας, αποφασιστεί να διεξαχθούν δοκιμές *in vivo*, το πρώτο βήμα πρέπει να είναι μια αρχική δοκιμή σε ένα ζώο. Εάν από τα αποτελέσματα αυτής της δοκιμής προκύψει ότι η ουσία είναι διαβρωτική για το δέρμα, δεν θα πρέπει να διεξαχθούν άλλες δοκιμές. Εάν κατά την αρχική δοκιμή δεν παρατηρηθεί διαβρωτική επίδραση, η ερεθιστική ή αρνητική απόκριση πρέπει να επιβεβαιωθεί με έκθεση δύο επιπλέον ζώων για χρονικό διάστημα τεσσάρων ωρών. Εάν κατά την αρχική δοκιμή έχει παρατηρηθεί ερεθιστική επίδραση, η επιβεβαιωτική δοκιμή μπορεί να διεξαχθεί είτε με διαδοχική είτε με ταυτόχρονη έκθεση των δύο επιπλέον ζώων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

(1) ΟΟΣΑ (1996). Test Guidelines Programme: Final Report on the OECD Workshop on Harmonization of Validation and Acceptance Criteria for Alternative Toxicological Test Methods. Solna, Σουηδία, 22–24 Ιανουαρίου 1996 (http://www1.oecd.org/ehs/test/background.htm).

(2) ΟΟΣΑ (1998). Εναρμονισμένο Ολοκληρωμένο Σύστημα Ταξινόμησης Κινδύνων για τις Επιδράσεις των Χημικών Ουσιών στην Υγεία του ανθρώπου και στο Περιβάλλον, το οποίο εγκρίθηκε από την 28η κοινή συνεδρίαση της επιτροπής χημικών προϊόντων και της ομάδας εργασίας για τα χημικά προϊόντα, το Νοέμβριο του 1998 ((http://www1.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm).

(3) Worth, A.P., Fentem J.H., Balls M., Botham P.A., Curren R.D., Earl L.K., Esdaile D.J., Liebsch M. (1998). An Evaluation of the Proposed OECD Testing Strategy for Skin Corrosion. ATLA 26, 709-720.

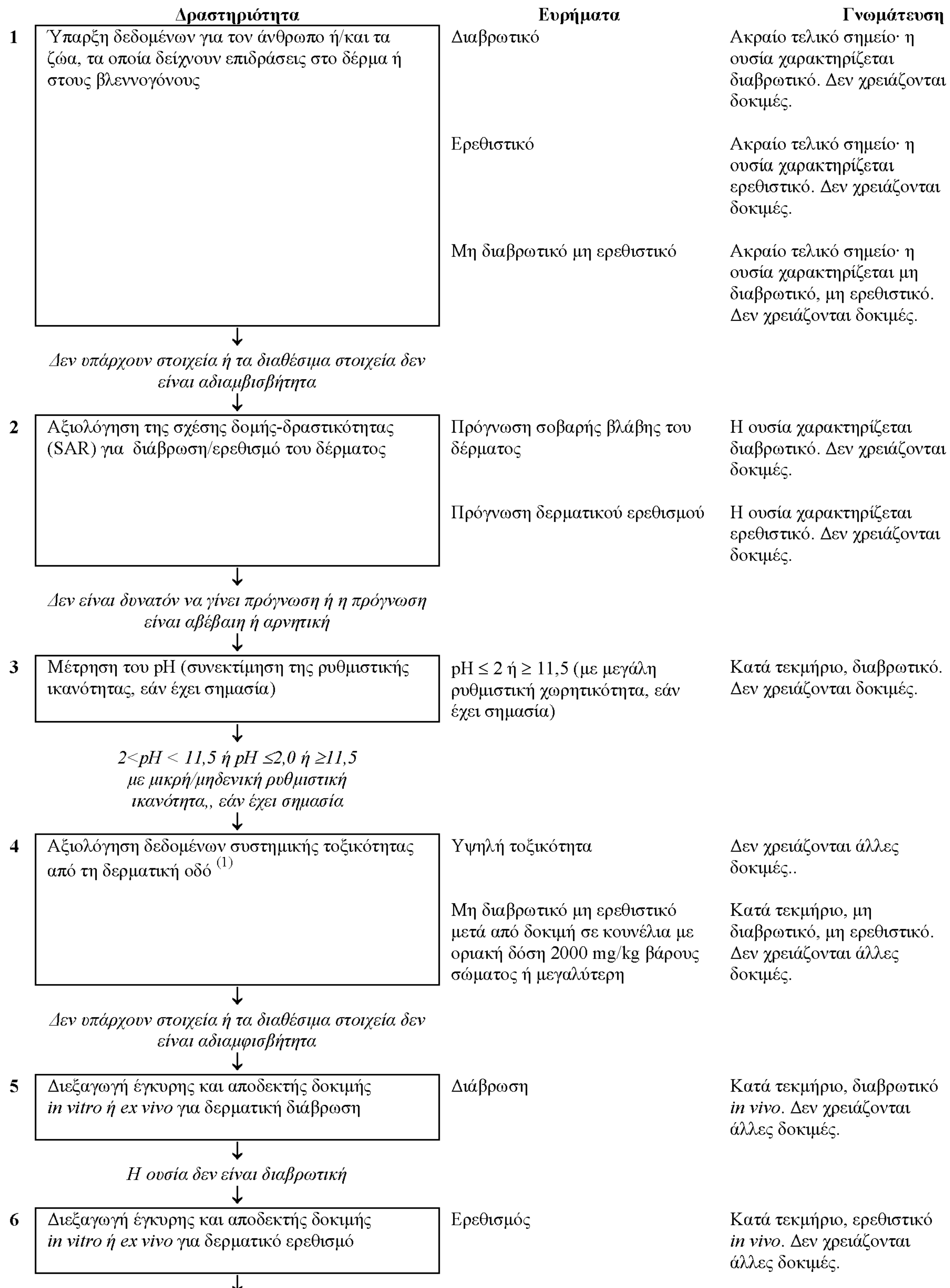
(4) Young, J.R., How, M.J., Walker, A.P., Worth, W.M.H. (1988). Classification as Corrosive or Irritant to Skin of Preparations Containing Acidic or Alkaline Substances, Without Testing on Animals. Toxic In Vitro, 2 (1) pp 19-26.

(5) Patil, S.M., Patrick, E., Maibach, H.I. (1996) Animal, Human, and In Vitro Test Methods for Predicting Skin Irritation, in: Francis N. Marzulli and Howard I. Maibach (editors): Dermatotoxicology. Fifth Edition ISBN 1-56032-356-6, Chapter 31, 411-436.

(6) Μέθοδος δοκιμών B.40.

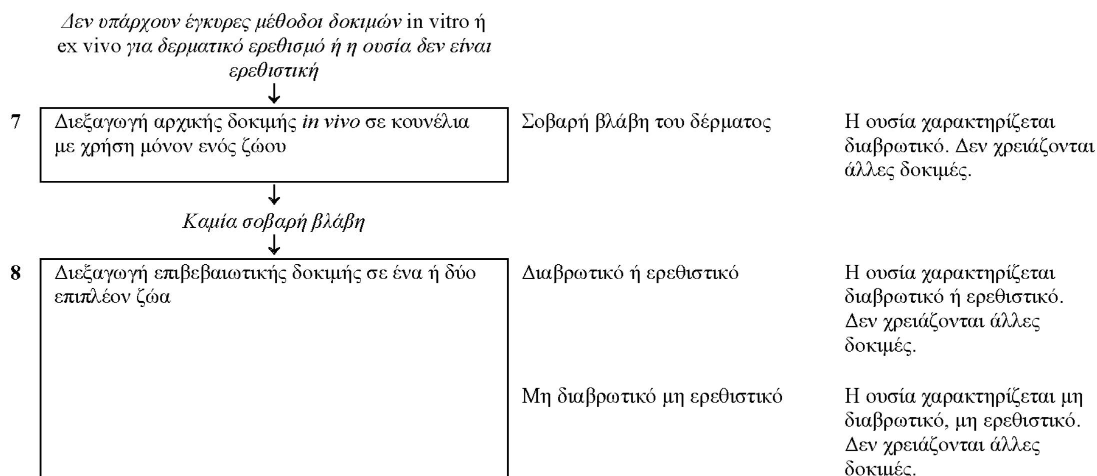
(7) Fentem, J.H., Archer, G.E.B., Balls, M., Botham, P.A., Curren, R.D., Earl, L.K., Esdaile, D.J., Holzhutter, H.G. and Liebsch, M. (1998) The ECVAM international validation study on in vitro tests for skin corrosivity. 2. Results and evaluation by the Management Team. Toxicology in Vitro 12, pp.483 – 524.

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ
ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΗ ΔΟΚΙΜΩΝ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ ΓΙΑ ΕΡΕΘΙΣΜΟ/ΔΙΑΒΡΩΣΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ



	Δραστηριότητα	**Ευρήματα**	**Γνωμάτευση**
1	Ύπαρξη δεδομένων για τον άνθρωπο ή/και τα ζώα, τα οποία δείχνουν επιδράσεις στο δέρμα ή στους βλεννογόνους	Διαβρωτικό	Ακραίο τελικό σημείο· η ουσία χαρακτηρίζεται διαβρωτικό. Δεν χρειάζονται δοκιμές.
		Ερεθιστικό	Ακραίο τελικό σημείο· η ουσία χαρακτηρίζεται ερεθιστικό. Δεν χρειάζονται δοκιμές.
		Μη διαβρωτικό μη ερεθιστικό	Ακραίο τελικό σημείο· η ουσία χαρακτηρίζεται μη διαβρωτικό, μη ερεθιστικό. Δεν χρειάζονται δοκιμές.
	↓ *Δεν υπάρχουν στοιχεία ή τα διαθέσιμα στοιχεία δεν είναι αδιαμβισβήτητα* ↓		
2	Αξιολόγηση της σχέσης δομής-δραστικότητας (SAR) για διάβρωση/ερεθισμό του δέρματος	Πρόγνωση σοβαρής βλάβης του δέρματος	Η ουσία χαρακτηρίζεται διαβρωτικό. Δεν χρειάζονται δοκιμές.
		Πρόγνωση δερματικού ερεθισμού	Η ουσία χαρακτηρίζεται ερεθιστικό. Δεν χρειάζονται δοκιμές.
	↓ *Δεν είναι δυνατόν να γίνει πρόγνωση ή η πρόγνωση είναι αβέβαιη ή αρνητική* ↓		
3	Μέτρηση του pH (συνεκτίμηση της ρυθμιστικής ικανότητας, εάν έχει σημασία)	pH ≤ 2 ή ≥ 11,5 (με μεγάλη ρυθμιστική χωρητικότητα, εάν έχει σημασία)	Κατά τεκμήριο, διαβρωτικό. Δεν χρειάζονται δοκιμές.
	↓ *$2 < pH < 11{,}5$ ή $pH \leq 2{,}0$ ή $\geq 11{,}5$ με μικρή/μηδενική ρυθμιστική ικανότητα,, εάν έχει σημασία* ↓		
4	Αξιολόγηση δεδομένων συστημικής τοξικότητας από τη δερματική οδό [(1)]	Υψηλή τοξικότητα	Δεν χρειάζονται άλλες δοκιμές..
		Μη διαβρωτικό μη ερεθιστικό μετά από δοκιμή σε κουνέλια με οριακή δόση 2000 mg/kg βάρους σώματος ή μεγαλύτερη	Κατά τεκμήριο, μη διαβρωτικό, μη ερεθιστικό. Δεν χρειάζονται άλλες δοκιμές.
	↓ *Δεν υπάρχουν στοιχεία ή τα διαθέσιμα στοιχεία δεν είναι αδιαμφισβήτητα* ↓		
5	Διεξαγωγή έγκυρης και αποδεκτής δοκιμής *in vitro ή ex vivo* για δερματική διάβρωση	Διάβρωση	Κατά τεκμήριο, διαβρωτικό *in vivo*. Δεν χρειάζονται άλλες δοκιμές.
	↓ *Η ουσία δεν είναι διαβρωτική* ↓		
6	Διεξαγωγή έγκυρης και αποδεκτής δοκιμής *in vitro ή ex vivo* για δερματικό ερεθισμό	Ερεθισμός	Κατά τεκμήριο, ερεθιστικό *in vivo*. Δεν χρειάζονται άλλες δοκιμές.
	↓		

(1) Μπορεί να προηγηθεί των σταδίων 2 και 3.



Δεν υπάρχουν έγκυρες μέθοδοι δοκιμών in vitro ή ex vivo *για δερματικό ερεθισμό ή η ουσία δεν είναι ερεθιστική*

↓

7	Διεξαγωγή αρχικής δοκιμής *in vivo* σε κουνέλια με χρήση μόνον ενός ζώου	Σοβαρή βλάβη του δέρματος	Η ουσία χαρακτηρίζεται διαβρωτικό. Δεν χρειάζονται άλλες δοκιμές.

↓

Καμία σοβαρή βλάβη

↓

8	Διεξαγωγή επιβεβαιωτικής δοκιμής σε ένα ή δύο επιπλέον ζώα	Διαβρωτικό ή ερεθιστικό	Η ουσία χαρακτηρίζεται διαβρωτικό ή ερεθιστικό. Δεν χρειάζονται άλλες δοκιμές.
		Μη διαβρωτικό μη ερεθιστικό	Η ουσία χαρακτηρίζεται μη διαβρωτικό, μη ερεθιστικό. Δεν χρειάζονται άλλες δοκιμές.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2Ε

Β. 5. ΟΞΕΙΑ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ: ΕΡΕΘΙΣΜΟΣ/ΔΙΑΒΡΩΣΗ ΤΩΝ ΟΦΘΑΛΜΩΝ

1. **Η ΜΕΘΟΔΟΣ**

Η παρούσα μέθοδος είναι ισοδύναμη με την κατευθυντήρια γραμμή δοκιμών TG 405 (2002) του ΟΟΣΑ.

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Κατά την ανάπτυξη της παρούσας αναπροσαρμοσμένης μεθόδου, δόθηκε ιδιαίτερη προσοχή στις δυνατότητες βελτίωσης με την αξιολόγηση όλων των διαθέσιμων στοιχείων σχετικά με τις ελεγχόμενες ουσίες, ώστε να μην διεξάγονται περιττές δοκιμές σε πειραματόζωα και, κατ' επέκταση να υπάρξει ανταπόκριση στον προβληματισμό για τη καλή μεταχείριση των ζώων. Η μέθοδος περιλαμβάνει τη σύσταση να υποβάλλονται τα υφιστάμενα δεδομένα σε ανάλυση βάρους της μαρτυρίας (1), πριν από τη διεξαγωγή της περιγραφόμενης δοκιμής *in vivo* για οξείας μορφής διάβρωση/ερεθισμό των οφθαλμών. Εφόσον τα διαθέσιμα δεδομένα είναι ανεπαρκή, συνιστάται να συμπληρώνονται με την εφαρμογή ακολουθιακού ελέγχου (2)(3). Η συνιστώμενη στρατηγική δοκιμών περιλαμβάνει την εκτέλεση έγκυρων και αποδεκτών δοκιμασιών *in vitro* και παρατίθεται σε παράρτημα της μεθόδου δοκιμών. Επιπλέον, πριν εξεταστεί το ενδεχόμενο οφθαλμικής δοκιμής *in vivo*, συνιστάται η διεξαγωγή δοκιμής *in vivo* για διάβρωση/ερεθισμό του δέρματος με σκοπό την πρόγνωση της διάβρωσης των οφθαλμών.

Προς όφελος τόσο της ορθότητας του επιστημονικού έργου, όσο και της πρόνοιας για τα ζώα, δεν θα πρέπει να διεξάγονται δοκιμές *in vivo*, πριν αξιολογηθούν, με ανάλυση βάρους της μαρτυρίας, όλα τα διαθέσιμα δεδομένα σχετικά με την πιθανή διαβρωτική/ερεθιστική επίδραση των ουσιών στους οφθαλμούς. Τα εν λόγω δεδομένα περιλαμβάνουν στοιχεία από προηγούμενες μελέτες στον άνθρωπο ή/και σε πειραματόζωα, στοιχεία που αποδεικνύουν ότι μία ή περισσότερες ουσίες με ανάλογη χημική δομή ή μίγματα τέτοιων ουσιών προκαλούν διάβρωση/ερεθισμό, δεδομένα υψηλής οξύτητας ή αλκαλικότητας των ουσιών (4)(5) και αποτελέσματα έγκυρων και αποδεκτών δοκιμών *in vitro* ή *ex vivo* για διάβρωση και ερεθισμό του δέρματος (6)(6a). Οι μελέτες αυτές είναι δυνατόν να έχουν διεξαχθεί πριν από την ανάλυση βάρους της μαρτυρίας ή ως απόρροιά της.

Από την ανωτέρω ανάλυση ενδέχεται να προκύπτει ανάγκη μελετών *in vivo* της διαβρωτικής/ερεθιστικής για τους οφθαλμούς ικανότητας ορισμένων ουσιών. Στις περιπτώσεις αυτές, πριν εξεταστεί το ενδεχόμενο εφαρμογής της οφθαλμικής δοκιμής *in vivo*, θα πρέπει πρώτα να μελετώνται και να αξιολογούνται οι δερματικές επιδράσεις των ουσιών *in vivo* σύμφωνα με τη μέθοδο δοκιμών Β.4 (7). Η εφαρμογή της ανάλυσης βάρους της μαρτυρίας, καθώς και της στρατηγικής διαδοχικών δοκιμών αναμένεται να περιορίσει την ανάγκη διεξαγωγής δοκιμών *in vivo* για διαβρωτική/ερεθιστική επίδραση στους οφθαλμούς, ουσιών για τις οποίες υπάρχουν ήδη επαρκή αποδεικτικά στοιχεία, προερχόμενα από άλλες μελέτες. Εάν η διαβρωτική/ερεθιστική για τους οφθαλμούς ικανότητα δεν είναι δυνατόν να προσδιοριστεί με τη στρατηγική διαδοχικών δοκιμών, ακόμη και μετά τη μελέτη της διάβρωσης και του ερεθισμού του δέρματος *in vivo*, τότε μπορεί να διεξάγεται δοκιμή *in vivo* για διάβρωση/ερεθισμό των οφθαλμών.

Σε παράρτημα της παρούσας μεθόδου παρατίθεται η προτιμώμενη στρατηγική διαδοχικών δοκιμών (ακολουθιακός έλεγχος), που περιλαμβάνει τη διεξαγωγή έγκυρων και αποδεκτών δοκιμών διάβρωσης/ερεθισμού *in vitro* ή *ex vivo*. Η στρατηγική αυτή διαμορφώθηκε σε ημερίδα του ΟΟΣΑ, προτάθηκε ομόφωνα από τους συνέδρους (8) και εγκρίθηκε ως συνιστώμενη στρατηγική δοκιμών στο Παγκόσμιο Εναρμονισμένο Σύστημα Ταξινόμησης Χημικών Ουσιών (Globally Harmonised System for

the Classification of Chemical Substances/GHS) (9). Συνιστάται η εφαρμογή της εν λόγω στρατηγικής διαδοχικών δοκιμών πριν από τη διεξαγωγή δοκιμών *in vivo*. Προκειμένου για νέες ουσίες, αποτελεί τη συνιστώμενη κλιμακωτή προσέγγιση για τη συλλογή επιστημονικώς ορθών στοιχείων σχετικά με τη διαβρωτική/ερεθιστική δράση των ουσιών. Στην περίπτωση των υφισταμένων ουσιών, για τις οποίες δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία όσον αφορά τη δερματική και οφθαλμική διάβρωση/ερεθισμό, η στρατηγική θα πρέπει να χρησιμοποιείται για να συμπληρωθούν τα κενά στα δεδομένα. Η εφαρμογή διαφορετικής στρατηγικής ή διαδικασίας δοκιμών ή τυχόν απόφαση να μην εφαρμοστεί κλιμακωτή προσέγγιση δοκιμών θα πρέπει να αιτιολογείται.

1.2 ΟΡΙΣΜΟΙ

Ερεθισμός των οφθαλμών: είναι η πρόκληση αλλοιώσεων του οφθαλμού, οι οποίες εμφανίζονται μετά την εφαρμογή της ελεγχόμενης ουσίας στην εμπρόσθια επιφάνειά του και είναι πλήρως αναστρέψιμες εντός 21 ημερών από την εφαρμογή της ουσίας.

Διάβρωση των οφθαλμών: είναι η βλάβη ιστών του οφθαλμού ή σοβαρή μείωση της όρασης, η οποία εμφανίζεται μετά την εφαρμογή της ελεγχόμενης ουσίας στην εμπρόσθια επιφάνεια του οφθαλμού και δεν είναι πλήρως αναστρέψιμη εντός 21 ημερών από την εφαρμογή της ουσίας.

1.3 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΩΝ

Μία δόση της ελεγχόμενης ουσίας εφαρμόζεται εφάπαξ σε έναν από τους οφθαλμούς του πειραματόζωου, ενώ ο οφθαλμός που δεν έχει υποβληθεί σε αγωγή χρησιμεύει ως μάρτυρας. Σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα, αξιολογείται η έκταση του ερεθισμού /της διάβρωσης του οφθαλμού με βαθμολόγηση τω αλλοιώσεων του επιπεφυκότα, του κερατοειδούς και της ίριδας. Περιγράφονται επίσης τυχόν άλλες επιδράσεις στους οφθαλμούς και συστημικές δυσμενείς επιδράσεις με σκοπό την πλήρη αξιολόγηση των επιδράσεων. Η διάρκεια της μελέτης θα πρέπει να είναι επαρκής για να εκτιμηθεί αν οι επιδράσεις είναι αναστρέψιμες ή μη.

Τα ζώα που εμφανίζουν διαρκή σημεία έντονης δυσφορίας ή/και πόνου σε οποιοδήποτε στάδιο της δοκιμής θα πρέπει να θανατώνονται με ευθανασία, οπότε η ουσία αξιολογείται ανάλογα. Κριτήρια για τη λήψη απόφασης σχετικά με την ευθανασία ετοιμοθάνατων ή βαρέως πασχόντων ζώων παρέχονται στη δημοσίευση (10).

1.4 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΩΝ

1.4.1 **Προετοιμασία της δοκιμής *in vivo***

1.4.1.1 *Επιλογή είδους ζώων*

Το προτιμώμενο πειραματόζωο είναι το αλφικό κουνέλι και χρησιμοποιούνται υγιή νεαρά ενήλικα ζώα. Η χρήση άλλων φυλών ή ειδών θα πρέπει να αιτιολογείται.

1.4.1.2 *Προετοιμασία των ζώων*

Κάθε πειραματόζωο που επιλέγεται προσωρινά για τη δοκιμή θα πρέπει, εντός των 24 ωρών που προηγούνται της έναρξής της, να υποβάλλεται σε οφθαλμολογική εξέταση και των δύο οφθαλμών. Δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ζώα που εμφανίζουν ερεθισμένους οφθαλμούς, ανωμαλίες της όρασης ή προϋπάρχουσες κακώσεις του κερατοειδούς.

1.4.1.3 *Συνθήκες στέγασης και διατροφής*

Τα ζώα πρέπει να στεγάζονται χωριστά. Για τα κουνέλια, η θερμοκρασία του θαλάμου πειραματοζώων πρέπει να είναι 20ºC (±3ºC). Αν και η σχετική υγρασία πρέπει να είναι τουλάχιστον 30% και, κατά προτίμηση, να μην υπερβαίνει το 70%, εκτός από τις περιόδους καθαρισμού του θαλάμου, εν τούτοις ο στόχος θα πρέπει να είναι μια τιμή 50-60%. Ο φωτισμός πρέπει να είναι τεχνητός, με εναλλαγή φωτός-σκότους ανά 12ωρο. Για τη διατροφή των ζώων μπορούν να χρησιμοποιούνται τα συνήθη εργαστηριακά σιτηρέσια, με απεριόριστη παροχή πόσιμου νερού.

1.4.2 **Διαδικασία δοκιμής**

1.4.2.1 *Εφαρμογή της ελεγχόμενης ουσίας*

Η ελεγχόμενη ουσία πρέπει να τοποθετείται στο θόλο του επιπεφυκότα του ενός οφθαλμού κάθε ζώου, αφού τραβηχτεί, με απαλές κινήσεις, το κάτω βλέφαρο από το βολβό. Στη συνέχεια, με απαλές κινήσεις, τα βλέφαρα διατηρούνται κλειστά για ένα περίπου δευτερόλεπτο, για να αποφευχθεί η απώλεια υλικού. Ο άλλος οφθαλμός, που δεν υποβάλλεται σε αγωγή, χρησιμεύει ως μάρτυρας.

1.4.2.2 *Διαβροχή*

Οι οφθαλμοί των πειραματόζωων δεν πρέπει να εκπλύνονται για 24 ώρες τουλάχιστον μετά την ενστάλαξη

της ελεγχόμενης ουσίας, εκτός εάν αυτή είναι στερεά (βλ. παράγραφο 1.4.2.3.2), όπως και εάν εκδηλωθούν αμέσως διαβρωτικές ή ερεθιστικές επιδράσεις. Σε 24 ώρες μπορεί να γίνει έκπλυση, εάν θεωρηθεί απαραίτητο.

Δεν συνιστάται η χρήση δορυφορικής ομάδας ζώων για τη διερεύνηση της επίδρασης της έκπλυσης, εκτός εάν το επιβάλλουν επιστημονικοί λόγοι. Στις περιπτώσεις όπου απαιτείται δορυφορική ομάδα, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται δύο κουνέλια και να τεκμηριώνονται επιμελώς οι συνθήκες έκπλυσης, π.χ. χρόνος έκπλυσης, σύνθεση και θερμοκρασία του διαλύματος, διάρκεια, όγκος και ταχύτητα εφαρμογής.

1.4.2.3 *Επίπεδα δόσεων*

1.4.2.3.1 *Δοκιμή υγρών*

Για τη δοκιμή υγρών χρησιμοποιείται μία δόση 0,1 ml. Τα εκνεφώματα (σπρέι) δεν θα πρέπει να ενσταλάζονται απευθείας από τον ψεκαστήρα στον οφθαλμό. Το υγρό θα πρέπει να εκβάλλεται από τον περιέκτη, να συλλέγεται σε άλλο δοχείο και κατόπιν να λαμβάνονται 0,1 ml για ενστάλαξη στον οφθαλμό.

1.4.2.3.2 *Δοκιμή στερεών*

Για τη δοκιμή στερεών, αλοιφών και κοκκωδών υλικών, η χρησιμοποιούμενη ποσότητα πρέπει να έχει όγκο 0,1 ml ή βάρος που δεν υπερβαίνει τα 100 mg. Το ελεγχόμενο υλικό πρέπει να λειοτριβείται σε λεπτή σκόνη. Ο όγκος του στερεού υλικού πρέπει να μετράται μετά από ελαφρά συμπίεση, π.χ. με μικρά κτυπήματα στο δοχείο μέτρησης. Εάν η στερεά ελεγχόμενη ουσία δεν έχει απομακρυνθεί από τον οφθαλμό του πειραματοζώου, με τους φυσιολογικούς μηχανισμούς, κατά την πρώτο χρόνο παρατήρησης, που είναι μία ώρα μετά την αγωγή, ο οφθαλμός μπορεί να εκπλύνεται με φυσιολογικό ορό ή απεσταγμένο νερό.

1.4.2.3.3 *Δοκιμή αερολυμάτων*

Όλα τα εκνεφώματα και αερολύματα συνιστάται να συλλέγονται σε άλλο δοχείο πριν από την ενστάλαξη στον οφθαλμό, με μόνη εξαίρεση τις ουσίες που περιέχονται σε δοχεία υπό πίεση, οι οποίες δεν είναι δυνατόν να συλλεγούν επειδή εξατμίζονται. Στις περιπτώσεις αυτές, ο οφθαλμός θα πρέπει να κρατείται ανοικτός και η ουσία να χορηγείται με ένα μόνο ψεκασμό διάρκειας ενός δευτερολέπτου περίπου από απόσταση 10 cm, ακριβώς απέναντι από τον οφθαλμό. Αυτή η απόσταση μπορεί να κυμαίνεται πράγμα που εξαρτάται από την πίεση του εκνεφώματος και από τα συστατικά του. Θα πρέπει να καταβάλλεται προσοχή ώστε ο οφθαλμός να μην υφίσταται βλάβη από την πίεση ψεκασμού. Σε ειδικές περιπτώσεις, ενδέχεται να είναι αναγκαία η εκτίμηση της πιθανότητας να προκληθεί "μηχανική" βλάβη στον οφθαλμό από τη δύναμη του αερολύματος.

Η δόση του αερολύματος είναι δυνατόν να υπολογιστεί κατά προσέγγιση με την ακόλουθη προσομοίωση της δοκιμής: η ουσία ψεκάζεται μέσω οπής μεγέθους οφθαλμού κουνελιού επάνω σε χαρτί τοποθετημένο ακριβώς πίσω της. Η αύξηση του βάρους του χαρτιού παρέχει μια εκτίμηση της ποσότητας που θα ψεκαστεί στον οφθαλμό. Στην περίπτωση των πτητικών ουσιών, η δόση μπορεί να υπολογιστεί κατά προσέγγιση με ζύγιση του δοχείου που περιέχει το ελεγχόμενο υλικό πριν και μετά την αφαιρεσή του.

1.4.2.4 *Αρχική δοκιμή (Δοκιμή ερεθισμού/διάβρωσης των οφθαλμών in vivo σε ένα ζώο)*

Όπως αναφέρεται στη στρατηγική διαδοχικών δοκιμών (βλ. παράρτημα 1), συνιστάται έντονα να διεξάγεται η δοκιμή *in vivo* πρώτα σε ένα μόνο ζώο.

Εάν τα αποτελέσματα της δοκιμής αυτής υποδεικνύουν, σύμφωνα με την περιγραφόμενη διαδικασία, ότι η ουσία είναι διαβρωτικό ή ισχυρό ερεθιστικό των οφθαλμών, δεν θα πρέπει να διεξάγονται άλλες δοκιμές ερεθισμού των οφθαλμών.

1.4.2.5 *Τοπική αναισθησία*

Κατά περίπτωση, μπορούν να χρησιμοποιούνται τοπικά αναισθητικά. Εάν η ανάλυση βάρους της μαρτυρίας υποδεικνύει ότι η ουσία μπορεί να προκαλέσει πόνο ή εάν από την αρχική δοκιμή έχει προκύψει επώδυνη αντίδραση, μπορεί να χρησιμοποιηθεί τοπικό αναισθητικό πριν από την ενστάλαξη της ελεγχόμενης ουσίας. Ο τύπος, η συγκέντρωση και η δόση του τοπικού αναισθητικού θα πρέπει να επιλέγονται προσεκτικά, ώστε να εξασφαλίζεται ότι δεν πρόκειται να υπάρξει σημαντική διαφοροποίηση της αντίδρασης στην ελεγχόμενη ουσία λόγω της χρήσης του. Με τον ίδιο τρόπο θα πρέπει να αναισθητοποιείται και ο οφθαλμός μάρτυρας.

1.4.2.6 *Επιβεβαιωτική δοκιμή (δοκιμή ερεθισμού των οφθαλμών in vivo σε επιπλέον ζώα)*

Εάν δεν έχει παρατηρηθεί διαβρωτική επίδραση κατά την αρχική δοκιμή, η ερεθιστική ή αρνητική απόκριση θα πρέπει να επιβεβαιώνεται με χρήση έως δύο επιπλέον ζώων. Εάν κατά την αρχική δοκιμή έχει παρατηρηθεί ισχυρή ερεθιστική επίδραση, που υποδεικνύει πιθανή σοβαρή (μη αναστρέψιμη) επίδραση κατά την επιβεβαιωτική δοκιμή, συνιστάται η διεξαγωγή της επιβεβαιωτικής δοκιμής σε διαδοχικές φάσεις με χρήση ενός ζώου κάθε φορά αντί της ταυτόχρονης έκθεσης των δύο επιπλέον ζώων. Εάν το δεύτερο ζώο εμφανίσει διαβρωτικές ή ισχυρές ερεθιστικές επιδράσεις, η δοκιμή διακόπτεται. Για την αξιολόγηση ασθενών ή μέτριων ερεθιστικών αποκρίσεων ενδέχεται να απαιτηθούν περισσότερα ζώα.

1.4.2.7 *Περίοδος παρατήρησης*

Η διάρκεια της περιόδου παρατήρησης θα πρέπει να είναι επαρκής για να εκτιμηθεί πλήρως η έκταση των παρατηρούμενων επιδράσεων και το κατά πόσον αυτές είναι αναστρέψιμες. Παρόλα αυτά, το πείραμα θα πρέπει να τερματίζεται αμέσως μόλις το ζώο εμφανίσει διαρκή σημεία ισχυρού πόνου ή δυσφορίας (9). Για να κριθεί αν οι επιδράσεις είναι αναστρέψιμες, τα ζώα θα πρέπει κατά κανόνα να παρατηρούνται για χρονικό διάστημα 21 ημερών μετά τη χορήγηση της ελεγχόμενης ουσίας. Εάν διαπιστωθεί ότι είναι αναστρέψιμες πριν παρέλθουν 21 ημέρες, το πείραμα θα πρέπει να τερματίζεται τη συγκεκριμένη αυτή στιγμή.

1.4.2.7.1 *Κλινικές παρατηρήσεις και διαβάθμιση των οφθαλμικών αντιδράσεων*

Οι οφθαλμοί θα πρέπει να εξετάζονται 1, 24, 48 και 72 ώρες μετά την εφαρμογή της ελεγχόμενης ουσίας. Τα ζώα θα πρέπει να παραμένουν στη δοκιμή μόνο για όσο χρόνο απαιτείται για να ληφθούν οριστικά στοιχεία. Τα ζώα που εμφανίζουν διαρκή σημεία ισχυρού πόνου ή δυσφορίας θα πρέπει να θανατώνονται αμέσως με ευθανασία, οπότε η ουσία αξιολογείται ανάλογα. Θα πρέπει επίσης να θανατώνονται με ευθανασία τα ζώα που εμφανίζουν τις ακόλουθες αλλοιώσεις μετά την ενστάλαξη, επειδή συνήθως αυτές δεν είναι αναστρέψιμες: διάτρηση ή σοβαρή εξέλκωση του κερατοειδούς, συμπεριλαμβανομένου του σταφυλώματος, αιμορραγία στον οπίσθιο θάλαμο του οφθαλμού, θολερότητα του κερατοειδούς βαθμού 4 για 48 ώρες; απουσία φωτοκινητικού αντανακλαστικού (βαθμός απόκρισης ίριδας 2) για 72 ώρες; εξέλκωση του επιπεφυκότα, νέκρωση του επιπεφυκότα ή της σκαρδαμυκτικής μεμβράνης, εσχάρα.

Τα ζώα που δεν εμφανίζουν αλλοιώσεις των οφθαλμών μπορούν να απομακρύνονται από τη δοκιμή, το νωρίτερο 3 ημέρες μετά την ενστάλαξη. Τα ζώα που εμφανίζουν ελαφρές έως μέτριες αλλοιώσεις θα πρέπει να παρατηρούνται μέχρι αυτές να εξαλειφθούν ή για χρονικό διάστημα 21 ημερών, οπότε η μελέτη τερματίζεται. Θα πρέπει να γίνεται παρατήρηση την 7η, 14η και 21η ημέρα για να παρακολουθείται η εξέλιξη των αλλοιώσεων και να κρίνεται αν αυτές είναι αναστρέψιμες ή μη.

Σε κάθε εξέταση θα πρέπει να καταγράφεται η βαθμολογία των οφθαλμικών αντιδράσεων (πίνακας Ι). Θα πρέπει επίσης να αναφέρονται τυχόν άλλες αλλοιώσεις του οφθαλμού (π.χ. πάννος, χρώση) ή συστημικές δυσμενείς επιδράσεις.

Η εξέταση των αντιδράσεων μπορεί να διευκολυνθεί με τη χρήση διόφθαλμου οφθαλμοσκοπίου, φορητής σχισμοειδούς λυχνίας, βιομικροσκοπίου ή άλλου κατάλληλου οργάνου. Μετά την καταγραφή των παρατηρήσεων του πρώτου 24ώρου, οι οφθαλμοί μπορούν να εξετάζονται περαιτέρω με τη βοήθεια φλουορεσκεΐνης.

Η διαβάθμιση των οφθαλμικών αποκρίσεων είναι κατ' ανάγκην υποκειμενική. Για να διευκολυνθεί η εναρμόνιση της διαβάθμισης των οφθαλμικών αποκρίσεων και να βοηθηθούν, αφενός τα εργαστήρια δοκιμών και, αφετέρου, το προσωπικό που εκτελεί και ερμηνεύει τις παρατηρήσεις, απαιτείται κατάλληλη εκπαίδευση του εν λόγω προσωπικού στο χρησιμοποιούμενο σύστημα βαθμολόγησης.

2. **ΔΕΔΟΜΕΝΑ**

2.2 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Η βαθμολογία του οφθαλμικού ερεθισμού θα πρέπει να αξιολογείται σε συνδυασμό με το είδος και τη σοβαρότητα των αλλοιώσεων, καθώς και με το κατά πόσον αυτές είναι αναστρέψιμες. Οι επιμέρους βαθμοί δεν αντιπροσωπεύουν ένα απόλυτο πρότυπο για τις ερεθιστικές ιδιότητες ενός υλικού, δεδομένου ότι αξιολογούνται και άλλες επιδράσεις των ελεγχόμενων ουσιών. Αντίθετα, θα πρέπει να θεωρούνται ως τιμές αναφοράς και έχουν αξία μόνον εφόσον τεκμηριώνονται από πλήρη περιγραφή και αξιολόγηση όλων των παρατηρήσεων.

3. **ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΝ**

3.1 ΕΚΘΕΣΗ ΔΟΚΙΜΗΣ

Η έκθεση δοκιμής πρέπει να περιλαμβάνει τα ακόλουθα στοιχεία:

Αιτιολόγηση της διεξαγωγής δοκιμής *in vivo*: ανάλυση βάρους της μαρτυρίας των δεδομένων που προϋπήρχαν, συμπεριλαμβανομένων των αποτελεσμάτων της στρατηγικής διαδοχικών δοκιμών:

— περιγραφή των σχετικών δεδομένων που έχουν προκύψει από προηγούμενες δοκιμές·
— δεδομένα που προέκυψαν σε κάθε στάδιο της στρατηγικής δοκιμών·
— περιγραφή των δοκιμών in vitro που πραγματοποιήθηκαν, με λεπτομέρειες για τις διαδικασίες και τα αποτελέσματα που ελήφθησαν με τις ουσίες ελέγχου/αναφοράς·
— περιγραφή της μελέτης του δερματικού ερεθισμού/διάβρωσης *in vivo* που πραγματοποιήθηκε, καθώς και των αποτελεσμάτων της·
— ανάλυση βάρους της μαρτυρίας προκειμένου να διεξαχθεί μελέτη *in vivo*.

Ελεγχόμενη ουσία:

— στοιχεία ταυτότητας (π.χ. αριθ. CAS, πηγή, καθαρότητα, γνωστές ξένες προσμίξεις, αριθμός παρτίδας)·
— φυσική κατάσταση και φυσικοχημικές ιδιότητες (π.χ. pH, πτητικότητα, διαλυτότητα, σταθερότητα, αντίδραση με το νερό)·
— προκειμένου για μίγματα, σύνθεση και εκατοστιαία αναλογία των συστατικών·
— εάν χρησιμοποιήθηκε τοπικό αναισθητικό, στοιχεία ταυτότητας, καθαρότητα, τύπος, δόση και πιθανή αλληλεπίδραση με την ελεγχόμενη ουσία.

Φορέας:

— στοιχεία ταυτότητας, συγκέντρωση (κατά περίπτωση), όγκος που χρησιμοποιήθηκε·
— αιτιολόγηση της επιλογής του φορέα.

Πειραματόζωα δοκιμής:

— είδος/φυλή που χρησιμοποιήθηκε, αιτιολόγηση της χρήσης άλλων ζώων αντί αλφικών κουνελιών·
— ηλικία κάθε ζώου κατά την έναρξη της μελέτης·
— αριθμός ζώων κάθε φύλου στις ομάδες δοκιμής και μαρτύρων (εφόσον απαιτούνται)·
— βάρος κάθε ζώου στην αρχή και στο τέλος της δοκιμής·
— προέλευση των ζώων, συνθήκες στέγασης, σιτηρέσιο κλπ..

Αποτελέσματα:

— περιγραφή της μεθόδου που χρησιμοποιήθηκε για τη βαθμολόγηση του ερεθισμού σε κάθε χρονική στιγμή παρατήρησης (π.χ. φορητή σχισμοειδής λυχνία, βιομικροσκόπιο, φλουορεσκεΐνη)·
— καταχώρηση σε πίνακα των δεδομένων που αφορούν την ερεθιστική/διαβρωτική απόκριση για κάθε ζώο σε κάθε χρονική στιγμή παρατήρησης μέχρι την απομάκρυνσή του από τη δοκιμή·
— αναλυτική περιγραφή του είδους και της έκτασης του ερεθισμού ή της διάβρωσης που παρατηρήθηκε·
— περιγραφή άλλων αλλοιώσεων που ενδεχομένως παρατηρήθηκαν στον οφθαλμό (π.χ. νεοαγγείωση, σχηματισμός πάννου, συγκολλήσεις, χρώση)·
— περιγραφή άλλων δυσμενών τοπικών επιδράσεων εκτός της περιοχής των οφθαλμών και συστημικών επιδράσεων, καθώς και τυχόν παθολογοανατομικών ευρημάτων.

Συζήτηση των αποτελεσμάτων

3.2 ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Η παρέκταση στον άνθρωπο των αποτελεσμάτων μελετών ερεθισμού των οφθαλμών που έχουν διεξαχθεί σε πειραματόζωα ισχύει μόνον ως ένα σημείο. Σε πολλές περιπτώσεις το αλφικό κουνέλι είναι πιο ευαίσθητο από τον άνθρωπο στα ερεθιστικά ή διαβρωτικά των οφθαλμών.

Κατά την ερμηνεία των αποτελεσμάτων θα πρέπει να καταβάλλεται προσοχή για να μην λαμβάνεται υπόψη ο ερεθισμός που οφείλεται σε δευτεροπαθείς μολύνσεις.

4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

(1) Barratt, M.D., Castell, J.V., Chamberlain, M., Combes, R.D., Dearden, J.C., Fentem, J.H., Gerner, I., Giuliani, A., Gray, T.J.B., Livingston, D.J., Provan, W.M., Rutten, F.A.J.J.L., Verhaar, H.J.M., Zbinden, P. (1995) The Integrated Use of Alternative Approaches for Predicting Toxic Hazard. ECVAM Workshop Report 8. ATLA 23, 410 - 429.

(2) de Silva, O., Cottin, M., Dami, N., Roguet, R., Catroux, P., Toufic, A., Sicard, C., Dossou, K.G., Gerner, I., Schlede, E., Spielmann, H., Gupta, K.C., Hill, R.N. (1997) Evaluation of Eye Irritation Potential: Statistical Analysis and Tier Testing Strategies. Food Chem. Toxicol 35, 159 - 164.

(3) Worth A.P. and Fentem J.H. (1999) A general approach for evaluating stepwise testing strategies ATLA 27, 161-177

(4) Young, J.R., How, M.J., Walker, A.P., Worth W.M.H. (1988) Classification as Corrosive or Irritant to Skin of Preparations Containing Acidic or Alkaline Substance Without Testing on Animals. Toxicol. *In Vitro*, 2, 19 - 26.

(5) Neun, D.J. (1993) Effects of Alkalinity on the Eye Irritation Potential of Solutions Prepared at a Single pH. J. Toxicol. Cut. Ocular Toxicol. 12, 227 - 231.

(6) Fentem, J.H., Archer, G.E.B., Balls, M., Botham, P.A., Curren, R.D., Earl, L.K., Edsaile, D.J., Holzhutter, H.G. and Liebsch, M. (1998) The ECVAM international validation study on in vitro tests for skin corrosivity. 2. Results and evaluation by the Management Team. Toxicology in Vitro 12, pp.483 – 524.

(6a) Μέθοδο¦ δοκιμών Β.40. Διάβρωση του δέρματος.

(7) Μέθοδος δοκιμών Β.4. Οξεία τοξικότητα: ερεθισμός/διάβρωση του δέρματος.

(8) ΟΟΣΑ (1996) OECD Test Guidelines Programme: Final Report of the OECD Workshop on Harmonization of Validation and Acceptance Criteria for Alternative Toxicological Test Methods. Solna, Σουηδία, 22 - 24 Ιανουαρίου 1996 (http://www.oecd.org/ehs/test/background.htm).

(9) ΟΟΣΑ (1998) Εναρμονισμένο Ολοκληρωμένο Σύστημα Ταξινόμησης Κινδύνων για τις Επιδράσεις των Χημικών Ουσιών στην Υγεία του ανθρώπου και στο Περιβάλλον, το οποίο εγκρίθηκε από την 28η κοινή συνεδρίαση της επιτροπής χημικών προϊόντων και της ομάδας εργασίας για τα χημικά προϊόντα, το Νοέμβριο του 1998 (http://www.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm).

(10) Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. OECD Environmental Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment No. 19 (http://www.oecd.org/ehs/test/monos.htm).

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι: ΔΙΑΒΑΘΜΙΣΗ ΤΩΝ OCULAR LESIONS

Κερατοειδής

Αδιαφάνεια: βαθμός θολερότητας (η ανάγνωση θα πρέπει να λαμβάνεται από την πιο θολή περιοχή)*

Καμία εξέλκωση ούτε αδιαφάνεια 0
Διάσπαρτες ή διάχυτες αδιαφανείς περιοχές (εκτός από ελαφρό θάμπωμα της φυσιολογικής στιλπνότητας), σαφώς διακρινόμενες λεπτομέρειες της ίριδας 1
Ευδιάκριτη ημιδιαφανής περιοχή, ελαφρά συγκάλυψη των λεπτομερειών της ίριδας........ 2
Γκρίζα περιοχή, πλήρης συγκάλυψη των λεπτομερειών της ίριδας; μόλις διακρινόμενο μέγεθος της κόρης 3
Αδιαφανής κερατοειδής; μη διακρινόμενη ίριδα 4

Μέγιστος δυνατός βαθμός: 4

* Θα πρέπει να σημειώνεται η επιφάνεια της αδιαφανούς περιοχής

Ίριδα

Φυσιολογική 0
Εμφανής βάθυνση των πτυχώσεων, συμφόρηση, οίδημα, μέτρια υπεραιμία από τους περιβάλλοντες τον κερατοειδή Ιστούς, ή διαστολή, φωτοευαίσθητη ίριδα (η καθυστέρηση αντίδρασης θεωρείται θετικό εύρημα) 1
Αιμορραγία, μακροσκοπικώς ορατή καταστροφή ή καμία αντίδραση στο φως........ 2

Μέγιστος δυνατός βαθμός: 2

Επιπεφυκότας

Φυσιολογική ερυθρότητα (αναφέρεται στο βλεφαρικό και βολβικό επιπεφυκότα, εκτός της ίριδας και του κερατοειδούς)........ 0
Υπεραιμία ορισμένων αιμοφόρων αγγείων (Διαστολή)........ 1
Διάχυτο πορφυρό χρώμα, δυσδιάκριτα τα αιμοφόρα αγγεία........ 2
Διάχυτο ερυθρό χρώμα βοείου κρέατος........ 3

Μέγιστος δυνατός βαθμός: 3

Χήμωση
Οίδημα (αναφέρεται στα βλέφαρα ή/και στη σκαρδαμυκτική μεμβράνη)

Φυσιολογική 0
Οίδημα ελαφρώς μεγαλύτερο του φυσιολογικού........ 1
Εμφανές οίδημα με μερική αναστροφή των βλεφάρων 2
Οίδημα με τα βλέφαρα σχεδόν ημίκλειστα........ 3
Οίδημα με τα βλέφαρα σχεδόν κλειστά 4

Μέγιστος δυνατός βαθμός: 4

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Στρατηγική διαδοχικών δοκιμών (ακολουθιακός έλεγχος) για ερεθισμό και διάβρωση των οφθαλμών

ΓΕΝΙΚΗ ΘΕΩΡΗΣΗ

Προς όφελος τόσο της ορθότηταςτου επιστημονικού έργου, όσο και της πρόνοιας για τα ζώα, έχει μεγάλη σημασία να αποφεύγεται η περιττή χρήση πειραματοζώων και να ελαχιστοποιείται η διεξαγωγή δοκιμών που είναι πιθανόν να τους προκαλέσουν ισχυρές αντιδράσεις. Πριν αντιμετωπιστεί το ενδεχόμενο διεξαγωγής δοκιμών *in vivo*, θα πρέπει να αξιολογούνται όλα τα στοιχεία που αφορούν τις πιθανές διαβρωτικές/ερεθιστικές επιδράσεις των ουσιών στους οφθαλμούς. Ενδέχεται να υπάρχουν ήδη μαρτυρίες που αρκούν για τη ταξινόμηση της ελεγχόμενης ουσίας από πλευράς διαβρωτικής ή ερεθιστικής για τους οφθαλμούς ικανότητας, χωρίς να χρειάζονται δοκιμές σε πειραματόζωα. Η εφαρμογή επομένως της ανάλυσης βάρους της μαρτυρίας και μιας στρατηγικής διαδοχικών δοκιμών ελαχιστοποιεί την ανάγκη διεξαγωγής δοκιμών *in vivo*, ιδίως εάν πιθανολογείται ότι η ουσία προκαλεί ισχυρές αντιδράσεις.

Συνιστάται η χρήση της ανάλυσης βάρους της μαρτυρίας για την αξιολόγηση των διαθέσιμων στοιχείων σχετικά με τη διάβρωση και τον ερεθισμό των οφθαλμών από την εκάστοτε ουσία, προκειμένου να κριθεί αν πρέπει να διεξαχθούν συμπληρωματικές μελέτες, πλην οφθαλμικών μελετών *in vivo*, για να βοηθήσουν στο χαρακτηρισμό των συγκεκριμένων ιδιοτήτων. Εφόσον χρειάζονται περαιτέρω μελέτες, συνιστάται η εφαρμογή της στρατηγικής διαδοχικών δοκιμών για τη συλλογή των σχετικών πειραματικών δεδομένων. Στην περίπτωση των ουσιών που δεν έχουν υποβληθεί σε δοκιμές στο παρελθόν, η στρατηγική διαδοχικών δοκιμών θα πρέπει να χρησιμοποιείται για τη συλλογή των δεδομένων που απαιτεί η αξιολόγηση της διαβρωτικής/ερεθιστικής για τους οφθαλμούς ικανότητας των ουσιών. Η στρατηγική δοκιμών που περιγράφεται στο παρόν παράρτημα διαμορφώθηκε σε ημερίδα του ΟΟΣΑ (1) και, στη συνέχεια, επικυρώθηκε και διευρύνθηκε στο Εναρμονισμένο Ολοκληρωμένο Σύστημα Ταξινόμησης Κινδύνων για τις Επιδράσεις των Χημικών Ουσιών στην Υγεία του ανθρώπου και στο Περιβάλλον, το οποίο εγκρίθηκε από την 28η κοινή συνεδρίαση της επιτροπής χημικών προϊόντων και της ομάδας εργασίας για τα χημικά προϊόντα, το Νοέμβριο του 1998 (2).

Η παρούσα στρατηγική δοκιμών δεν αποτελεί αναπόσπαστο μέρος της μεθόδου δοκιμών Β.5, αλλά έκφραση της συνιστώμενης προσέγγισης για τον προσδιορισμό των ερεθιστικών/διαβρωτικών για τους οφθαλμούς ιδιοτήτων. Η προσέγγιση αυτή αντιπροσωπεύει, αφενός την ορθή πρακτική και, αφετέρου, ένα δεοντολογικό σημείο αναφοράς για τη διεξαγωγή δοκιμών οφθαλμικής διάβρωσης/ερεθισμού *in vivo*. Η μεθοδολογία δοκιμών παρέχει κατευθύνσεις για τη διεξαγωγή της δοκιμής *in vivo* και συγκεφαλαιώνει τους παράγοντες που θα πρέπει να εξετάζονται πριν αποφασιστεί μια τέτοια δοκιμή. Η στρατηγική διαδοχικών δοκιμών παρέχει μια προσέγγιση βασισμένη στην ανάλυση βάρους της μαρτυρίας για την αξιολόγηση των διαθέσιμων δεδομένων σχετικά με τις ερεθιστικές/διαβρωτικές για τους οφθαλμούς ιδιότητες των ουσιών, καθώς και μια κλιμακωτή προσέγγιση για τη παραγωγή των σχετικών δεδομένων στην περίπτωση των ουσιών για τις οποίες χρειάζονται συμπληρωματικές δοκιμές ή δεν έχουν διεξαχθεί δοκιμές. Η εν λόγω στρατηγική περιλαμβάνει τη διεξαγωγή, σε συγκεκριμένες περιστάσεις, πρώτα έγκυρων και αποδεκτών δοκιμών *in vitro* ή *ex vivo* και, κατόπιν, μελετών με τη μέθοδο δοκιμών Β.4 για διάβρωση/ερεθισμό του δέρματος. (3)(4).

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΚΛΙΜΑΚΩΤΗΣ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΗΣ ΔΟΚΙΜΩΝ

Πριν από τη διεξαγωγή δοκιμών στο πλαίσιο της στρατηγικής διαδοχικών δοκιμών (βλ. διάγραμμα), θα πρέπει να αξιολογούνται όλα τα διαθέσιμα στοιχεία, προκειμένου να κριθεί αν είναι αναγκαίο να διεξαχθούν οφθαλμικές δοκιμές *in vivo*. Αν και είναι δυνατόν να προκύψουν σημαντικά στοιχεία από την αξιολόγηση μεμονωμένων παραμέτρων (π.χ. ακραίες τιμές pH), θα πρέπει παρόλα αυτά να εξετάζεται το σύνολο των υφισταμένων στοιχείων. Προκειμένου να ληφθεί απόφαση με βάση ανάλυση βάρους της μαρτυρίας, θα πρέπει να αξιολογούνται όλα τα σημαντικά δεδομένα που αφορούν τις επιδράσεις της εκάστοτε ουσίας ή των αναλόγων της, και η απόφαση αυτή θα πρέπει να αιτιολογείται. Θα πρέπει να δίδεται έμφαση πρωτίστως στα διαθέσιμα δεδομένα για τις επιδράσεις των ουσιών στον άνθρωπο και στα ζώα και, κατόπιν, στα αποτελέσματα δοκιμών *in vitro* ή *ex vivo*. Θα πρέπει να αποφεύγονται, στο μέτρο του δυνατού, οι μελέτες διαβρωτικών ουσιών *in vivo*. Οι παράγοντες που λαμβάνονται υπόψη στη στρατηγική δοκιμών περιλαμβάνουν:

Αξιολόγηση υφιστάμενων δεδομένων για τον άνθρωπο και τα ζώα (Στάδιο 1). Πρώτα θα πρέπει να εξετάζονται τα διαθέσιμα δεδομένα που αφορούν τον άνθρωπο, π.χ. από κλινικές μελέτες ή μελέτες επαγγελματικής έκθεσης και αναφορές περιστατικών, ή/και τα δεδομένα δοκιμών σε ζώα από οφθαλμικές μελέτες, επειδή αυτά παρέχουν πληροφορίες που αφορούν άμεσα τις επιδράσεις στους οφθαλμούς. Στη συνέχεια, θα πρέπει να αξιολογούνται τα διαθέσιμα δεδομένα από μελέτες στον άνθρωπο ή/και στα ζώα με αντικείμενο τη διερεύνηση του ερεθισμού/της διάβρωσης του δέρματος. Οι ουσίες που είναι γνωστά διαβρωτικά ή ισχυρά ερεθιστικά των οφθαλμών δεν θα πρέπει να ενσταλάζονται στους οφθαλμούς πειραματοζώων. Το ίδιο ισχύει για τις ουσίες που έχουν διαβρωτικές ή ερεθιστικές επιδράσεις στο δέρμα. Οι εν λόγω ουσίες θα πρέπει να θεωρούνται διαβρωτικές ή/και ερεθιστικές και για τους οφθαλμούς. Οι ουσίες για τις οποίες υπάρχουν σαφείς αποδείξεις απουσίας διαβρωτικής ή ερεθιστικής ικανότητας, προερχόμενες από παλαιότερες οφθαλμικές μελέτες, δεν θα πρέπει επίσης να υποβάλλονται σε οφθαλμικές δοκιμές *in vivo*.

Ανάλυση της σχέσης δομής-δραστικότητας (SAR) (Στάδιο 2). Εάν υπάρχουν αποτελέσματα δοκιμών στις οποίες έχουν υποβληθεί ουσίες με παρεμφερή χημική δομή, θα πρέπει να εξετάζονται. Εφόσον τα διαθέσιμα δεδομένα για την επίδραση στον άνθρωπο ή/και στα ζώα ουσιών με παρεμφερή χημική δομή ή μιγμάτων τέτοιων ουσιών αρκούν για να καταδειχθεί η διαβρωτική/ερεθιστική για τους οφθαλμούς ικανότητα των τελευταίων, είναι δυνατόν να υποτεθεί ότι η ελεγχόμενη ουσία προκαλεί την ίδια απόκριση. Στις περιπτώσεις αυτές, η ελεγχόμενη ουσία μπορεί να μην χρειάζεται να υποβληθεί σε δοκιμή. Τα αρνητικά δεδομένα από μελέτες ουσιών με παρεμφερή χημική δομή ή μιγμάτων τέτοιων ουσιών δεν αποτελούν, βάσει της στρατηγικής διαδοχικών δοκιμών, επαρκή απόδειξη της απουσίας διαβρωτικής/ερεθιστικής ικανότητας μιας ουσίας. Θα πρέπει να χρησιμοποιούνται έγκυρες και αποδεκτές προσεγγίσεις SAR για τον προσδιορισμό της διαβρωτικής και της ερεθιστικής ικανότητας τόσο ως προς το δέρμα, όσο και ως προς τους οφθαλμούς.

Φυσικοχημικές ιδιότητες και χημική δραστικότητα (Στάδιο 3). Οι ουσίες που εμφανίζουν ακραίες τιμές pH, όπως ≤2.0 και ≥11,5, είναι δυνατόν να έχουν ισχυρές τοπικές επιδράσεις.. Εάν το ακραίο pH χρησιμοποιείται ως βάση για το χαρακτηρισμό μιας ουσίας ως διαβρωτικής ή ερεθιστικής για τους οφθαλμούς, τότε μπορεί να λαμβάνεται υπόψη και η δεσμευμένη οξύτητα/αλκαλικότητα (ή ρυθμιστική ικανότητα) (5)(6). Εάν η ρυθμιστική χωρητικότητα υποδεικνύει ότι η ουσία μπορεί να μην είναι διαβρωτικό των οφθαλμών, η ένδειξη αυτή θα πρέπει να επιβεβαιώνεται με τη διεξαγωγή περαιτέρω δοκιμών, κατά προτίμηση έγκυρων και αποδεκτών δοκιμών *in vitro* ή *ex vivo* (βλ. στάδια 5 και 6).

Μελέτη άλλων διαθέσιμων στοιχείων (Στάδιο 4). Στο στάδιο αυτό θα πρέπει να αξιολογούνται όλα τα διαθέσιμα στοιχεία σχετικά με τη συστημική τοξικότητα από τη δερματική οδό. Θα πρέπει επίσης να λαμβάνεται υπόψη η μέσω του δέρματος οξεία τοξικότητα της ελεγχόμενης ουσίας. Εάν η ελεγχόμενη ουσία έχει αποδειχθεί πολύ τοξική από τη δερματική οδό, μπορεί να μην χρειάζεται να υποβληθεί σε οφθαλμικές δοκιμές. Παρόλο που η οξεία τοξικότητα μέσω του δέρματος δεν σχετίζεται κατ' ανάγκην με τη διάβρωση/τον ερεθισμό των οφθαλμών, είναι δυνατόν να υποτεθεί ότι ένας παράγοντας υψηλής τοξικότητας από τη δερματική οδό θα έχει πολύ τοξική δράση και όταν ενσταλαχθεί στους οφθαλμούς. Η μελέτη των δεδομένων αυτών μπορεί επίσης να παρεμβληθεί μεταξύ των σταδίων 2 και 3.

Αποτελέσματα δοκιμών in vitro ή ex vivo (Στάδια 5 και 6). Οι ουσίες που έχουν εμφανίσει διαβρωτικές ή ισχυρές ερεθιστικές ιδιότητες σε δοκιμές *in vitro ή ex vivo* (7)(8), οι οποίες έχουν επικυρωθεί και είναι αποδεκτές για την αξιολόγηση των διαβρωτικών/ερεθιστικών επιδράσεων στους οφθαλμούς ή στο δέρμα, δεν χρειάζεται να ελέγχονται με δοκιμές σε ζώα· τεκμαίρεται ότι οι εν λόγω ουσίες θα έχουν ανάλογες σοβαρές επιδράσεις και *in vivo*. Εάν δεν υπάρχουν έγκυρες και αποδεκτές δοκιμές *in vitro/ex vivo*, τα στάδια 5 και 6 παρακάμπτονται και εφαρμόζεται κατευθείαν το στάδιο 7.

Αξιολόγηση της ερεθιστικής ή διαβρωτικής για το δέρμα ικανότητας των ουσιών in vivo (Στάδιο 7). Εφόσον τα διαθέσιμα στοιχεία δεν αρκούν για να διενεργηθεί αδιαμφισβήτητη ανάλυση βάρους της μαρτυρίας των δεδομένων από τις προαναφερόμενες μελέτες ως προς την πιθανή ερεθιστική/διαβρωτική επίδραση μιας ουσίας στους οφθαλμούς, θα πρέπει πρώτα να αξιολογείται η ερεθιστική/διαβρωτική για το δέρμα ικανότητα *in vivo* με εφαρμογή της μεθόδου δοκιμών Β.4 (4) και του παρατήματός της (9). Εάν διαπιστωθεί ότι η ουσία προκαλεί διάβρωση ή σοβαρό ερεθισμό του δέρματος, θα πρέπει να θεωρείται διαβρωτική ή ερεθιστική και για τους οφθαλμούς, εκτός εάν άλλα στοιχεία δικαιολογούν διαφορετικό συμπέρασμα. Κατά συνέπεια, δεν χρειάζεται δοκιμή *in vivo* στους οφθαλμούς. Εάν η ουσία δεν είναι διαβρωτικό ούτε ισχυρό ερεθιστικό του δέρματος, θα πρέπει να διεξάγεται δοκιμή *in vivo* στους οφθαλμούς.

Δοκιμή in vivo σε κουνέλια (Στάδια 8 και 9): Το πρώτο βήμα της οφθαλμικής μελέτης *in vivo* θα πρέπει να είναι μια αρχική δοκιμή σε ένα ζώο. Εάν από τα αποτελέσματα αυτής της δοκιμής προκύπτει ότι η ουσία είναι ισχυρό ερεθιστικό ή διαβρωτικό των οφθαλμών, δεν θα πρέπει να διεξάγονται άλλες δοκιμές. Εάν κατά την αρχική δοκιμή δεν διαπιστωθούν διαβρωτικές ή ισχυρές ερεθιστικές επιδράσεις, διεξάγεται επιβεβαιωτική δοκιμή σε δύο επιπλέον ζώα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

(1) ΟΟΣΑ (1996) OECD Test Guidelines Programme: Final Report of the OECD Workshop on Harmonization of Validation and Acceptance Criteria for Alternative Toxicological Test Methods. Solna, Σουηδία, 22 - 24 Ιανουαρίου 1996 (http://www1.oecd.org/ehs/test/background.htm).

(2) ΟΟΣΑ (1998). Εναρμονισμένο Ολοκληρωμένο Σύστημα Ταξινόμησης Κινδύνων για τις Επιδράσεις των Χημικών Ουσιών στην Υγεία του ανθρώπου και στο Περιβάλλον, το οποίο εγκρίθηκε από την 28η κοινή συνεδρίαση της επιτροπής χημικών προϊόντων και της ομάδας εργασίας για τα χημικά προϊόντα, το Νοέμβριο του 1998 (http://www1.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm).

(3) Worth, A.P. and Fentem J.H. (1999). A General Approach for Evaluating Stepwise Testing Strategies. ATLA 27, 161-177.

(4) Μέθοδος δοκιμών Β.4. Οξεία τοξικότητα: ερεθισμός/διάβρωση του δέρματος.

(5) Young, J.R., How, M.J., Walker, A.P., Worth W.M.H. (1988) Classification as Corrosive or Irritant to Skin of Preparations Containing Acidic or Alkaline Substance Without Testing on Animals. Toxicol. *In Vitro*, 2, 19 - 26.

(6) Neun, D.J. (1993) Effects of Alkalinity on the Eye Irritation Potential of Solutions Prepared at a Single pH. J. Toxicol. Cut. Ocular Toxicol. 12, 227 - 231.

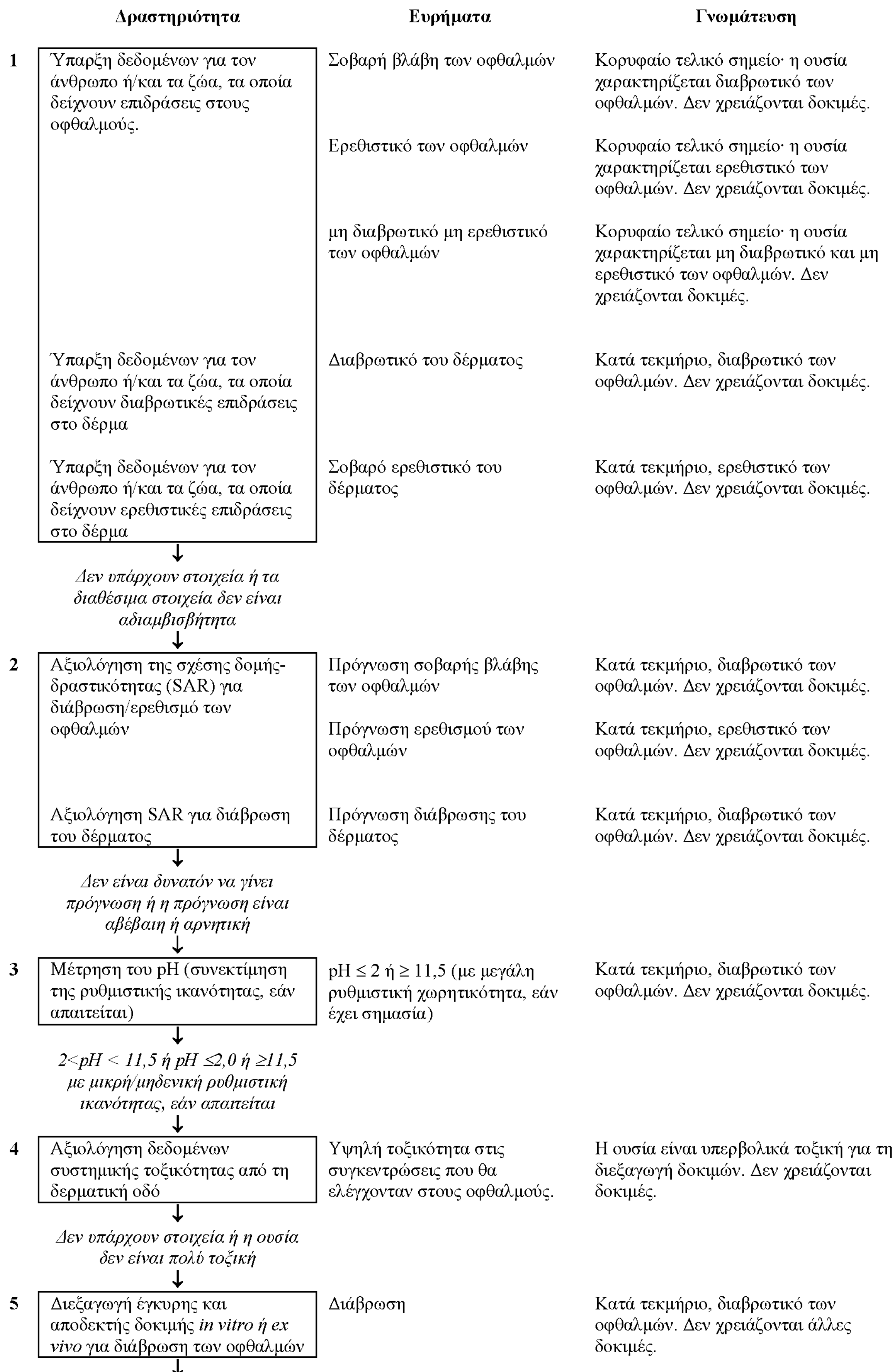
(7) Fentem, J.H., Archer, G.E.B., Balls, M., Botham, P.A., Curren, R.D., Earl, L.K., Edsail, D.J., Holzhutter, H.G. and Liebsch, M. (1998) The ECVAM international validation study on in vitro tests for skin corrosivity. 2. Results and evaluation by the Management Team. Toxicology in Vitro 12, pp.483 – 524.

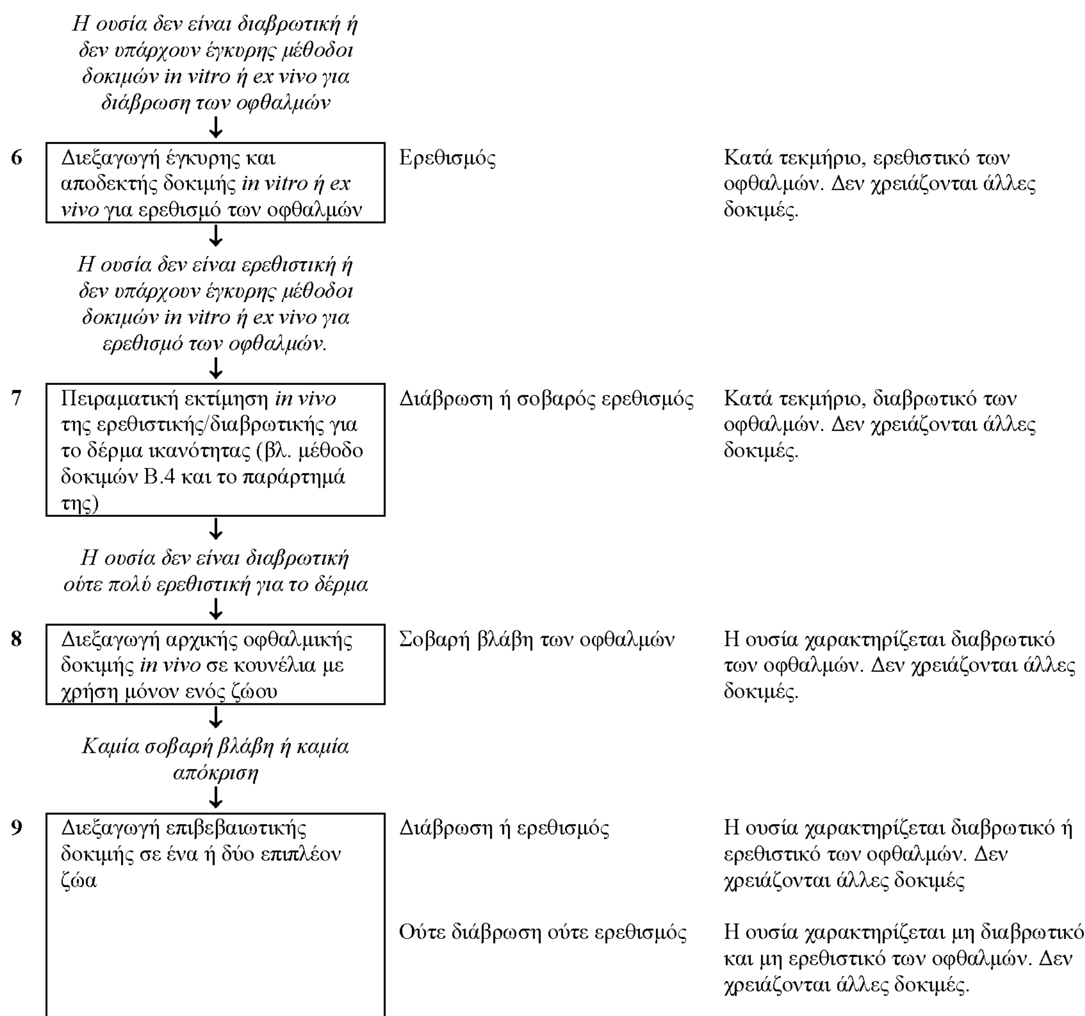
(8) Μέθοδος δοκιμών Β.40 Διάβρωση του δέρματος.

(9) Παράρτημα της μεθόδου δοκιμών Β.4: Στρατηγική διαδοχικών δοκιμών (ακολουθιακός έλεγχος) για ερεθισμό και διάβρωση του δέρματος.

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ

ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΗ ΔΟΚΙΜΩΝ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ ΓΙΑ ΕΡΕΘΙΣΜΟ/ΔΙΑΒΡΩΣΗ ΤΩΝ ΟΦΘΑΛΜΩΝ





	Η ουσία δεν είναι διαβρωτική ή δεν υπάρχουν έγκυρης μέθοδοι δοκιμών in vitro ή ex vivo για διάβρωση των οφθαλμών ↓		
6	Διεξαγωγή έγκυρης και αποδεκτής δοκιμής *in vitro ή ex vivo* για ερεθισμό των οφθαλμών	Ερεθισμός	Κατά τεκμήριο, ερεθιστικό των οφθαλμών. Δεν χρειάζονται άλλες δοκιμές.
	↓ *Η ουσία δεν είναι ερεθιστική ή δεν υπάρχουν έγκυρης μέθοδοι δοκιμών in vitro ή ex vivo για ερεθισμό των οφθαλμών.* ↓		
7	Πειραματική εκτίμηση *in vivo* της ερεθιστικής/διαβρωτικής για το δέρμα ικανότητας (βλ. μέθοδο δοκιμών Β.4 και το παράρτημά της)	Διάβρωση ή σοβαρός ερεθισμός	Κατά τεκμήριο, διαβρωτικό των οφθαλμών. Δεν χρειάζονται άλλες δοκιμές.
	↓ *Η ουσία δεν είναι διαβρωτική ούτε πολύ ερεθιστική για το δέρμα* ↓		
8	Διεξαγωγή αρχικής οφθαλμικής δοκιμής *in vivo* σε κουνέλια με χρήση μόνον ενός ζώου	Σοβαρή βλάβη των οφθαλμών	Η ουσία χαρακτηρίζεται διαβρωτικό των οφθαλμών. Δεν χρειάζονται άλλες δοκιμές.
	↓ *Καμία σοβαρή βλάβη ή καμία απόκριση* ↓		
9	Διεξαγωγή επιβεβαιωτικής δοκιμής σε ένα ή δύο επιπλέον ζώα	Διάβρωση ή ερεθισμός	Η ουσία χαρακτηρίζεται διαβρωτικό ή ερεθιστικό των οφθαλμών. Δεν χρειάζονται άλλες δοκιμές
		Ούτε διάβρωση ούτε ερεθισμός	Η ουσία χαρακτηρίζεται μη διαβρωτικό και μη ερεθιστικό των οφθαλμών. Δεν χρειάζονται άλλες δοκιμές.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2ΣΤ

B.31. ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΗΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ

1. ΜΕΘΟΔΟΣ

Η παρούσα μέθοδος αποτελεί αναπαραγωγή της OECD TG 414 (2001).

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παρούσα μέθοδος ελέγχου της τοξικότητας στην ανάπτυξη έχει σχεδιαστεί για την παροχή γενικών πληροφοριών σχετικά με τις επιπτώσεις της προγεννητικής έκθεσης στο κυοφορούν υπό δοκιμασία ζώο και στον οργανισμό που αναπτύσσεται στη μήτρα˙ στις πληροφορίες αυτές μπορεί να περιλαμβάνονται αξιολόγηση των επιπτώσεων στην μητέρα, καθώς και τυχόν θάνατος, ανατομικές ανωμαλίες ή μη φυσιολογική αύξηση του εμβρύου. Οι λειτουργικές ανεπάρκειες, αν και σημαντικό μέρος της ανάπτυξης, δεν εντάσσονται στην παρούσα μέθοδο δοκιμής. Αυτές μπορούν να ελεγχθούν σε ξεχωριστή μελέτη ή ως συμπλήρωμα της παρούσας μελέτης χρησιμοποιώντας τη μέθοδο δοκιμής για τη νευροτοξικότητα στην ανάπτυξη. Για τη λήψη πληροφοριών σχετικά με τον έλεγχο των λειτουργικών ανεπαρκειών και άλλων μεταγεννητικών επιπτώσεων, θα πρέπει να εξετάζεται η εφαρμογή της μεθόδου δοκιμής για τη μελέτη της τοξικότητας στην αναπαραγωγή σε δύο γενεές και για τη μελέτη της νευροτοξικότητας στην ανάπτυξη, ανάλογα.

Η παρούσα μέθοδος δοκιμής μπορεί να χρειάζεται κάποια ιδιαίτερη προσαρμογή σε επιμέρους περιπτώσεις με βάση κάποιες ειδικές γνώσεις για π.χ. τις φυσικοχημικές ή τοξικολογικές ιδιότητες της υπό δοκιμή ουσίας. Η προσαρμογή αυτή είναι αποδεκτή, όταν υπάρχουν πειστικές επιστημονικές ενδείξεις ότι η προσαρμογή θα οδηγήσει σε δοκιμή με δυνατότητες παροχής περισσότερων πληροφοριών. Σε μια τέτοια περίπτωση, οι επιστημονικές αυτές ενδείξεις θα πρέπει να τεκμηριώνονται προσεκτικά στην έκθεση της μελέτης.

1.2 ΟΡΙΣΜΟΙ

Αναπτυξιακή τοξικολογία: η μελέτη των δυσμενών επιδράσεων στον αναπτυσσόμενο οργανισμό, που μπορεί να προκύψουν από την έκθεση πριν από τη σύλληψη, κατά τη διάρκεια της προγεννητικής ανάπτυξης ή μεταγεννητικώς μέχρι την εποχή της σεξουαλικής ωρίμανσης. Στις σημαντικότερες εκδηλώσεις της τοξικότητας στην ανάπτυξη περιλαμβάνονται 1) ο θάνατος του οργανισμού, 2) ανατομικές ανωμαλίες, 3) μη φυσιολογική αύξηση του οργανισμού και 4) λειτουργική ανεπάρκεια. Η αναπτυξιακή τοξικολογία αναφερόταν συχνά στο παρελθόν ως τερατολογία.

Δυσμενής επίδραση: κάθε αλλαγή σε σχέση με το φυσιολογικό επίπεδο, η οποία επέρχεται ως αποτέλεσμα της έκθεσης και η οποία μειώνει την ικανότητα επιβίωσης, αναπαραγωγής ή προσαρμογής στο περιβάλλον ενός οργανισμού. Σε σχέση με την αναπτυξιακή τοξικολογία, λαμβανόμενη στην ευρεία της έννοια, ο ορισμός αυτός περιλαμβάνει κάθε επίδραση η οποία παρεμβαίνει στη φυσιολογική ανάπτυξη του κυήματος, τόσο πριν όσο και μετά τη γέννηση.

Μη φυσιολογική αύξηση: ανωμαλίες στο βάρος ή στο μέγεθος των οργάνων ή του βάρους των γόνων.

Αλλοιώσεις (ανωμαλίες): ανατομικές αλλοιώσεις στην ανάπτυξη, στις οποίες περιλαμβάνονται τόσον οι δυσπλασίες όσο και οι παρεκκλίσεις (28).

Δυσπλασία/Μείζων ανωμαλία: Ανατομική διαφορά που θεωρείται ως επιζήμια για το ζώο (μπορεί να είναι και θανατηφόρα) και είναι, συνήθως, σπάνια.

Παρέκκλιση/Ησσων ανωμαλία: Ανατομική διαφορά που θεωρείται ότι έχει μικρή ή μη επιζήμια επίδραση στο ζώο. Μπορεί να έχει μεταβατικό χαρακτήρα και να εμφανίζεται σχετικά συχνά στον πληθυσμό-μάρτυρα.

Κύημα: το σύνολο των παραγώγων ενός γονιμοποιημένου ωαρίου σε οποιοδήποτε στάδιο της ανάπτυξης από τη γονιμοποίηση μέχρι τη γέννηση, συμπεριλαμβανομένων των εξωεμβρυϊκών μεμβρανών, καθώς και του ίδιου του εμβρύου.

Εμφύτευση: προσκόλληση της βλαστικής κύστεως στο επιθήλιο της μήτρας, συμπεριλαμβανομένης της διείσδυσής του σε αυτό και της εγκατάστασής του στο ενδομήτριο.

Έμβρυο: το αρχικό ή αναπτυξιακό στάδιο οποιουδήποτε οργανισμού, ιδιαίτερα του αναπτυσσόμενου προϊόντος της γονιμοποίησης ενός ωού μετά την εμφάνιση του μακρού άξονα και μέχρι να παρουσιαστούν όλες οι βασικές δομές.

Εμβρυοτοξικότητα: επιβλαβής επίδραση στη φυσιολογική δομή, ανάπτυξη, αύξηση και/ή βιωσιμότητα ενός εμβρύου.

Διαμορφωμένο έμβρυο: ο αγέννητος γόνος κατά την μετεμβρυϊκή περίοδο.

Μετεμβρυοτοξικότητα: επιβλαβής επίδραση στη φυσιολογική δομή, ανάπτυξη, αύξηση και/ή βιωσιμότητα ενός διαμορφωμένου εμβρύου.

Αποβολή: η πρώιμη εκβολή από τη μήτρα των προϊόντων της σύλληψης: του εμβρύου ή μη βιώσιμου διαμορφωμένου εμβρύου.

Απορρόφηση: κύημα το οποίο, αφού εμφυτεύθηκε στη μήτρα, στη συνέχεια πέθανε και απορροφάται ή έχει απορροφηθεί.

Πρώιμη απορρόφηση: ενδείξεις εμφύτευσης χωρίς αναγνωρίσιμο έμβρυο/διαμορφωμένο έμβρυο

Όψιμη απορρόφηση: νεκρό έμβρυο ή διαμορφωμένο έμβρυο με εξωτερικές εκφυλιστικές διαφορές

NOAEL: συντομογραφία του no-observed-adverse-effect level – επίπεδο μη παρατήρησης δυσμενών επιδράσεων. Είναι η μέγιστη δόση ή επίπεδο έκθεσης όπου δεν παρατηρούνται δυσμενή ευρήματα σχετικά με την αγωγή.

1.3 ΟΥΣΙΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Καμία

1.4 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΗΣ

Κανονικά, η υπό δοκιμή ουσία χορηγείται σε κυοφορούντα ζώα από την εμφύτευση μέχρι μία ημέρα πριν από την προγραμματισμένη θανάτωση, η οποία θα πρέπει να είναι όσο το δυνατό πλησιέστερα στην κανονική ημέρα του τοκετού χωρίς, όμως, να τίθεται υπό κίνδυνο η απώλεια δεδομένων από πρόωρο τοκετό. Η μέθοδος δοκιμής δεν αποσκοπεί αποκλειστικά στην εξέταση της περιόδου της οργανογένεσης (π.χ. 5-15η ημέρα στα τρωκτικά και 6-18η ημέρα στα κουνέλια) αλλά ξεκινά από την προεμφύτευση, όπου γίνεται, και καλύπτει όλη την περίοδο της κύησης μέχρι την ημέρα πριν από την καισαρική τομή. Λίγο πριν από την καισαρική τομή, τα θηλυκά θανατώνονται, το περιεχόμενο της μήτρας εξετάζεται και τα έμβρυα αξιολογούνται από πλευράς ορατών εξωτερικά ανωμαλιών και διαφορών στους μαλακούς ιστούς και στο σκελετό.

1.5 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

1.5.1 **Επιλογή του είδους του ζώου**

Συνιστάται η δοκιμή να γίνεται στο πλέον σχετικό είδος και να χρησιμοποιούνται τα εργαστηριακά είδη και φυλές που χρησιμοποιούνται συνήθως σε δοκιμές προγεννητικής τοξικότητας στην ανάπτυξη. Το προτιμούμενο είδος τρωκτικού είναι ο επίμυς και το προτιμούμενο είδος μη τρωκτικού είναι του κουνέλι. Εάν χρησιμοποιηθεί κάποιο άλλο είδος, θα πρέπει να παρέχεται και σχετική αιτιολόγηση.

1.5.2 **Συνθήκες στέγασης και διατροφής**

Η θερμοκρασία στο θάλαμο πειραματισμού των ζώων θα πρέπει να είναι 22 ºC (± 3º) για τα τρωκτικά και 18 ºC (± 3º) για τα κουνέλια. Αν και η σχετική υγρασία θα πρέπει να είναι τουλάχιστον 30% και, κατά προτίμηση, να μην υπερβαίνει το 70% εκτός κατά τη διάρκεια του καθαρισμού του θαλάμου, στόχος θα πρέπει να είναι μια υγρασία 50-60 %. Ο φωτισμός θα πρέπει να είναι τεχνητός, με εναλλαγή 12 ωρών φωτός και 12 ωρών σκότους. Για τη διατροφή, μπορούν να χρησιμοποιούνται συνήθεις εργαστηριακές δίαιτες με απεριόριστη παροχή πόσιμου νερού.
Οι διαδικασίες του ζευγαρώματος θα πρέπει να γίνονται σε κλουβιά κατάλληλα για το σκοπό αυτό. Αν και προτιμάται τα ζώα που ζευγαρώνουν να είναι μόνα τους σε ένα κλουβί, η ομαδική συστέγαση σε μικρούς αριθμούς είναι και αυτή αποδεκτή.

1.5.3 **Προετοιμασία των ζώων**

Θα πρέπει να χρησιμοποιούνται υγιή ζώα, τα οποία να έχουν εγκλιματιστεί στις εργαστηριακές συνθήκες για 5 ημέρες τουλάχιστον και να μην έχουν υποβληθεί σε προηγούμενες πειραματικές διαδικασίες. Τα υπό δοκιμή ζώα θα πρέπει να χαρακτηρίζονται ως προς το είδος, τη φυλή, την προέλευση, το φύλο, το βάρος και/ή την ηλικία. Τα ζώα όλων των υπό δοκιμή ομάδων θα πρέπει, κατά το δυνατόν, να έχουν ομοιόμορφο βάρος και ηλικία. Σε κάθε επίπεδο δόσης, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται νεαρά ενήλικα άτοκα θηλυκά ζώα. Τα θηλυκά θα πρέπει να ζευγαρώνουν με αρσενικά του ίδιου είδους και φυλής, ενώ θα πρέπει να αποφεύγεται το ζευγάρωμα αμφιθαλών ατόμων. Για τα τρωκτικά, ημέρα 0 της κύησης είναι η ημέρα κατά την οποία παρατηρούνται κολπικό βύσμα και/ή σπέρμα. Για τα κουνέλια, ημέρα 0 είναι συνήθως η ημέρα της συνουσίας ή της τεχνητής έγχυσης σπέρματος, εφόσον χρησιμοποιείται η τεχνική αυτή. Τα ζευγαρωμένα θηλυκά θα πρέπει να εντάσσονται με τυχαίο τρόπο στις ομάδες μαρτυρίας και δοκιμής. Τα κλουβιά θα πρέπει να τοποθετούνται με τέτοιο τρόπο ώστε να ελαχιστοποιείται το ενδεχόμενο επιδράσεων λόγω της θέσης των κλουβιών. Σε κάθε ζώο θα πρέπει να δίνεται ένας αποκλειστικός αριθμός αναγνώρισης. Τα ζευγαρωμένα θηλυκά θα πρέπει να εντάσσονται με τυχαίο τρόπο στις ομάδες μαρτυρίας και δοκιμής και, εάν τα θηλυκά είναι ζευγαρωμένα σε παρτίδες, τα ζώα σε κάθε παρτίδα θα πρέπει να κατανέμονται ομοιόμορφα στις ομάδες. Ομοίως, τα θηλυκά που έχουν γονιμοποιηθεί με τεχνητή έγχυση από το ίδιο αρσενικό, θα πρέπει να κατανέμονται ομοιόμορφα στις ομάδες.

1.6 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1.6.1 **Αριθμός και φύλο των ζώων**

Κάθε ομάδα δοκιμής και μαρτυρίας θα πρέπει να περιλαμβάνει επαρκή αριθμό θηλυκών ώστε κατά τη νεκροψία να υπάρχουν 20 περίπου θηλυκά με εμφυτεύσεις. Ομάδες με λιγότερα από 16 ζώα με εμφυτεύσεις μπορεί να μην είναι κατάλληλες. Η θνησιμότητα των μητέρων δεν ακυρώνει κατ' ανάγκη τη μελέτη, υπό την προϋπόθεση ότι δεν υπερβαίνει το 10% περίπου.

1.6.2 **Ετοιμασία των δόσεων**

Εάν, για τη διευκόλυνση της παροχής της ουσίας, χρησιμοποιείται φορέας ή άλλο πρόσθετο, θα πρέπει να εξετάζονται τα ακόλουθα χαρακτηριστικά: οι επιδράσεις στην απορρόφηση, την κατανομή, το μεταβολισμό και την κατακράτηση ή απέκκριση της υπό δοκιμή ουσίας, οι επιδράσεις στις χημικές ιδιότητες της υπό δοκιμή ουσίας που μπορεί να μεταβάλουν τις τοξικές της ιδιότητες και οι επιδράσεις στην κατανάλωση τροφής ή νερού ή της διατροφικής κατάστασης των ζώων. Ο φορέας δεν θα πρέπει να παρουσιάζει τοξικές επιδράσεις στην ανάπτυξη, ούτε επιδράσεις στην αναπαραγωγή.

1.6.3 **Δοσολογία**

Κανονικά, η υπό δοκιμή ουσία θα πρέπει να χορηγείται καθημερινά από την εμφύτευση (π.χ., την 5η ημέρα από το ζευγάρωμα) μέχρι την ημέρα πριν από την προγραμματιζόμενη καισαρική τομή. Εάν, από υφιστάμενες προκαταρκτικές μελέτες, δεν φαίνεται να υπάρχουν ιδιαίτερες πιθανότητες προεμφυτευτικών απωλειών, η αγωγή μπορεί να επεκταθεί ώστε να συμπεριληφθεί ολόκληρη η περίοδος της κύησης, από το ζευγάρωμα μέχρι την ημέρα πριν από την προγραμματισμένη θανάτωση. Είναι γνωστό ότι τυχόν ακατάλληλοι χειρισμοί ή καταπονήσεις κατά τη διάρκεια της κύησης μπορεί να απολήξουν σε προγεννητικές απώλειες. Για την αποφυγή προγεννητικών απωλειών από παράγοντες που δεν σχετίζονται με την αγωγή, θα πρέπει να αποφεύγονται μη αναγκαίοι χειρισμοί των εγκύων ζώων καθώς και καταπονήσεις από εξωτερικούς παράγοντες όπως π.χ. οι θόρυβοι.

Θα πρέπει να χρησιμοποιούνται τρία τουλάχιστον επίπεδα δόσεων και ένας συντρέχων μάρτυρας. Τα υγιή ζώα θα πρέπει να εντάσσονται αβίαστα στις ομάδες μαρτυρίας και δοκιμής. Τα επίπεδα των δόσεων θα πρέπει να είναι κλιμακωμένα έτσι ώστε να επέρχεται μια διαβάθμιση των τοξικών επιδράσεων. Εκτός κι αν υπάρχουν περιορισμοί λόγω της φυσικής/χημικής φύσεως ή των βιολογικών ιδιοτήτων της υπό δοκιμή ουσίας, η μέγιστη δόση θα πρέπει να επιλέγεται με στόχο να προκαλεί κάποια τοξική δράση στην ανάπτυξη και/ή την μητέρα (κλινικά σημεία ή μείωση στο βάρος του σώματος) αλλά όχι θάνατο ή σοβαρή ταλαιπωρία. Ένα τουλάχιστον ενδιάμεσο επίπεδο δόσης θα πρέπει να επιφέρει κάποια ελάχιστα αντιληπτά τοξικά αποτελέσματα. Το μικρότερο επίπεδο δόσης δεν θα πρέπει να παρέχει οποιαδήποτε ένδειξη τοξικής δράσης στη μητέρα ή στην ανάπτυξη του εμβρύου. Θα πρέπει να επιλέγεται μια φθίνουσα σειρά επιπέδων δόσεων με σκοπό να γίνεται αντιληπτή κάθε απόκριση σχετική με τη δοσολογία και το επίπεδο μη παρατήρησης δυσμενών επιδράσεων (NOAEL). Για τη διαμόρφωση της φθίνουσας σειράς επιπέδων δόσεων, ο καλύτερος συχνά τρόπος είναι η χρησιμοποίηση διπλών ή τετραπλών διαστημάτων, ενώ η προσθήκη μιας τέταρτης ομάδας δοκιμής είναι συχνά προτιμότερη από τη χρησιμοποίηση πολύ μεγάλων διαστημάτων (π.χ. με συντελεστή άνω του 10) μεταξύ των δόσεων. Αν και στόχος είναι ο προσδιορισμός ενός μητρικού NOAEL, μπορούν να γίνουν δεκτές και μελέτες που δεν προσδιορίζουν ένα τέτοιο επίπεδο (1).

Τα επίπεδα δόσεων θα πρέπει να επιλέγονται λαμβάνοντας υπόψη όλα τα υπάρχοντα δεδομένα τοξικότητας καθώς και πρόσθετα στοιχεία για το μεταβολισμό και την τοξικοκινητικότητα της υπό δοκιμή ουσίας ή συναφών ουσιών. Τα στοιχεία αυτά βοηθούν επίσης και στην κατάδειξη της καταλληλότητας της δοσολογικής αγωγής.

Θα πρέπει να χρησιμοποιείται μια συντρέχουσα ομάδα μαρτύρων. Η ομάδα αυτή θα πρέπει να συνίσταται σε μια κατ' επίφαση υποβληθείσα σε αγωγή ομάδα μαρτύρων ή ομάδα με μάρτυρες στους οποίους έχει χορηγηθεί φορέας εφόσον, για τη χορήγηση της υπό δοκιμή ουσίας, χρησιμοποιείται φορέας. Σε όλες τις ομάδες θα πρέπει να χορηγείται η ίδια ποσότητα ουσίας υπό δοκιμή ή φορέα. Η μεταχείριση των ζώων στην ή στις ομάδες μαρτύρων θα πρέπει να είναι ίδια με εκείνη των ζώων των ομάδων δοκιμής. Στις ομάδες μαρτυρίας με χρήση φορέα, ο φορέας θα πρέπει να χορηγείται στη μέγιστη χρησιμοποιούμενη ποσότητα (όπως και στην ομάδα αγωγής με τη χαμηλότερη δόση).

1.6.4 **Δοκιμή ορίου**

Εάν δοκιμή με ένα μόνο επίπεδο δόσης τουλάχιστον 1000 mg/kg βάρους σώματος/ημέρα από το στόμα, χρησιμοποιώντας τις διαδικασίες που περιγράφονται για την παρούσα μελέτη, δεν εμφανίζει κάποια αντιληπτή τοξική δράση στα κυοφορούντα ζώα ή στους γόνους τους και εφόσον, από τα υφιστάμενα δεδομένα (π.χ. από ουσίες με παρόμοια δομή και/ή μεταβολισμό), δεν αναμένεται η εμφάνιση τέτοιας δράσης, τότε μπορεί να κριθεί ως μη αναγκαία η διενέργεια πλήρους μελέτης με τρία επίπεδα δόσεων. Από την αναμενόμενη έκθεση του ανθρώπου μπορεί να εκπορευθεί η ανάγκη χρησιμοποίησης υψηλότερου επιπέδου δόσης από το στόμα στη δοκιμή ορίου. Σε άλλους τρόπους χορήγησης, όπως η εισπνοή ή η δερματική επίθεση, από τις φυσικοχημικές ιδιότητες της υπό δοκιμή ουσίας μπορεί, συχνά, να υπάρχουν κάποιες ενδείξεις ή περιορισμοί ως προς το μέγιστο εφικτό επίπεδο έκθεσης (π.χ., η δερματική επίθεση δεν θα πρέπει να προκαλεί σοβαρή τοπική τοξικότητα).

1.6.5 **Χορήγηση δόσεων**

Η υπό δοκιμή ουσία ή φορέας χορηγείται, συνήθως, από το στόμα με διασωλήνωση. Εάν χρησιμοποιηθεί κάποια άλλη οδός χορήγησης, ο ερευνητής θα πρέπει να αναφέρει τους λόγους και να αιτιολογεί την επιλογή του, ενώ μπορεί να χρειάζονται κάποιες κατάλληλες τροποποιήσεις (2)(3)(4). Η υπό δοκιμή ουσία θα πρέπει να χορηγείται την ίδια ώρα περίπου κάθε μέρα.

Η δόση στα επιμέρους ζώα θα πρέπει κανονικά να βασίζεται στον πλέον πρόσφατο προσδιορισμό του βάρους του σώματος κάθε ζώου. Ωστόσο, θα πρέπει να δίδεται ιδιαίτερη προσοχή όταν η προσαρμογή της δόσης γίνεται κατά τη διάρκεια του τελευταίου τριμήνου της κυήσεως. Για την επιλογή των δόσεων θα πρέπει να χρησιμοποιούνται υφιστάμενα δεδομένα για την παρεμπόδιση εμφάνισης φαινομένων υπερβολικής τοξικότητας στη μητέρα. Ωστόσο, εάν στις υπό αγωγή μητέρες παρατηρηθούν φαινόμενα υπερβολικής τοξικότητας, τα ζώα αυτά θα πρέπει να θανατώνονται με ανθρωπιστικό τρόπο. Εάν κάποια κυοφορούντα ζώα δείχνουν σημεία υπερβολικής τοξικότητας, θα πρέπει να λαμβάνεται μέριμνα τερματισμού της δοκιμή στη δοσολογική αυτή ομάδα. Οταν η ουσία χορηγείται με καθετήρα δια του στόματος, αυτή θα πρέπει κατά προτίμηση να δίδεται ως εφάπαξ δόση στα ζώα χρησιμοποιώντας στομαχικό σωλήνα ή κατάλληλο σωλήνα διασωλήνωσης. Ο μέγιστος όγκος υγρού που μπορεί να χορηγείται άπαξ εξαρτάται από το μέγεθος του υπό δοκιμή ζώου. Ο όγκος δεν θα πρέπει να υπερβαίνει το 1ml/100 g βάρους σώματος, εκτός στην περίπτωση υδατικών διαλυμάτων όπου μπορούν να χρησιμοποιούνται 2 ml/100 g βάρους σώματος. Οταν ως φορέας χρησιμοποιείται αραβοσιτέλαιο, ο όγκος δεν θα πρέπει να υπερβαίνει τα 0,4 ml/100 g βάρους σώματος. Η διακύμανση στον όγκο δοκιμής θα πρέπει να ελαχιστοποιείται προσαρμόζοντας τις συγκεντρώσεις ώστε να διασφαλίζεται σταθερός όγκος σε όλα τα επίπεδα δόσεων.

1.6.6 **Παρατήρηση των μητέρων**

Μια φορά τουλάχιστον την ημέρα θα πρέπει να γίνονται και να καταγράφονται κλινικές παρατηρήσεις, κατά προτίμηση την ίδια ή τις ίδιες χρονικές στιγμές κάθε μέρα, λαμβάνοντας υπόψη την περίοδο κορύφωσης των προβλεπόμενων επιδράσεων μετά τη χορήγηση. Η κατάσταση των ζώων θα πρέπει να καταγράφεται συμπεριλαμβανομένης της θνησιμότητας, των ετοιμοθανάτων, των σχετικών αλλαγών στη συμπεριφορά και όλων των σημείων έκδηλης τοξικότητας.

1.6.7 **Βάρος σώματος και κατανάλωση τροφής**

Τα ζώα θα πρέπει να ζυγίζονται την ημέρα 0 της κυήσεως ή το αργότερο την 3η ημέρα της κυήσεως εάν τα ζώα που ζευγαρώνουν τα προμηθεύει εξωτερικός τροφέας, την πρώτη ημέρα της χορήγησης, τουλάχιστον κάθε 3 ημέρες κατά τη διάρκεια της περιόδου χορήγησης και την ημέρα της προγραμματισμένης θανάτωσης.

Η κατανάλωση τροφής θα πρέπει να καταγράφεται ανά διαστήματα τριών ημερών και θα πρέπει να συμπίπτει με τις ημέρες προσδιορισμού του βάρους του σώματος.

1.6.8 **Μεταθανάτιος εξέταση**

Τα θηλυκά θα πρέπει να θανατώνονται μια ημέρα πριν από την αναμενόμενη ημέρα του τοκετού. Θηλυκά τα οποία εμφανίζουν σημεία αποβολής ή προώρου τοκετού πριν από την προγραμματισμένη θανάτωση θα πρέπει να θανατώνονται και να υποβάλλονται σε επισταμένη μακροσκοπική εξέταση.

Σε περίπτωση τερματισμού ή θανάτου κατά τη διάρκεια της μελέτης, η μητέρα θα πρέπει να εξετάζεται μακροσκοπικά για τυχόν ανατομικές ανωμαλίες ή παθολογικές αλλαγές. Η αξιολόγηση των μητέρων κατά τη διάρκεια της καισαρικής τομής και οι μεταγενέστερες αναλύσεις του διαμορφωμένου εμβρύου θα πρέπει να διεξάγονται κατά προτίμηση χωρίς να είναι γνωστή η ομάδα δοκιμής για την ελαχιστοποίηση μεροληπτικών συμπερασμάτων.

1.6.9 **Εξέταση του περιεχομένου της μήτρας**

Αμέσως μετά τον τερματισμό ή το συντομότερο δυνατό μετά το θάνατο, οι μήτρες θα πρέπει να αφαιρούνται και να διαπιστώνεται η κατάσταση κυήσεως των ζώων. Μήτρες που δεν εμφανίζονται σε έγγυο κατάσταση θα πρέπει να εξετάζονται περαιτέρω (π.χ. με χρώση θειούχου αμμωνίου για τα τρωκτικά και με χρώση Salewski ή κατάλληλη εναλλακτική μέθοδο για τα κουνέλια) για την επιβεβαίωση της μη εγγύου καταστάσεως (5).

Οι έγγυοι μήτρες, συμπεριλαμβανομένου του τραχήλου, θα πρέπει να ζυγίζονται. Βάρη εγγύων μητρών δεν θα πρέπει να λαμβάνονται από ζώα που ανευρέθησαν νεκρά κατά τη διάρκεια της μελέτης.

Στα έγγυα ζώα θα πρέπει να προσδιορίζεται ο αριθμός των ωχρών σωματίων.

Το περιεχόμενο των μητρών θα πρέπει να εξετάζεται ως προς τον αριθμό των θανάτων εμβρύων ή διαμορφωμένων εμβρύων και βιώσιμων διαμορφωμένων εμβρύων. Θα πρέπει να περιγράφεται ο βαθμός της απορρόφησης για να εκτιμάται ο σχετικός χρόνος θανάτου του κυήματος (βλ. τμήμα 1.2).

1.6.10 **Εξέταση διαμορφωμένων εμβρύων**

Θα πρέπει να προσδιορίζεται το φύλο και το σωματικό βάρος κάθε διαμορφωμένου εμβρύου.

Κάθε διαμορφωμένο έμβρυο θα πρέπει να εξετάζεται για εξωτερικές αλλοιώσεις (6).

Τα διαμορφωμένα έμβρυα θα πρέπει να εξετάζονται για σκελετικές αλλοιώσεις και αλλοιώσεις του μαλακού ιστού (π.χ. παρεκκλίσεις και δυσπλασίες ή ανωμαλίες) (7) (8) (9) (10) (11) (12) (13) (14) (15) (16) (17) (18) (19) (20) (21) (22) (23) (24). Είναι επιθυμητή, αλλά όχι και απαιτητή, η κατηγοριοποίηση των αλλοιώσεων των διαμορφωμένων εμβρύων. Εφόσον γίνει κατηγοριοποίηση, θα πρέπει να δηλώνονται σαφώς τα κριτήρια καθορισμού κάθε κατηγορίας. Ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δίνεται στο αναπαραγωγικό σύστημα, το οποίο θα πρέπει να εξετάζεται για τυχόν ύπαρξη σημείων ανώμαλης ανάπτυξης.

Στην περίπτωση των τρωκτικών, θα πρέπει να ετοιμάζεται και να εξετάζεται το ήμισυ κάθε γέννας για σκελετικές αλλοιώσεις. Τα υπόλοιπα θα πρέπει να ετοιμάζονται και να εξετάζονται για αλλοιώσεις του μαλακού ιστού, χρησιμοποιώντας αποδεκτές ή κατάλληλες μεθόδους σειριακής τομής ή προσεκτικές τεχνικές αδρής εκτομής.

Στην περίπτωση μη τρωκτικών, π.χ. κουνέλια, όλα τα διαμορφωμένα έμβρυα θα πρέπει να εξετάζονται τόσο για σκελετικές, όσο και για αλλοιώσεις του μαλακού ιστού. Τα σώματα των διαμορφωμένων αυτών εμβρύων αξιολογούνται με προσεκτική εκτομή για τυχόν αλλοιώσεις του μαλακού ιστού, συμπεριλαμβανομένων ενδεχομένως και διαδικασιών για περαιτέρω αξιολόγηση της εσωτερικής καρδιακής κατασκευής (25). Τα κεφάλια του ημίσεος αριθμού των διαμορφωμένων εμβρύων που εξετάζονται με τον τρόπο αυτό θα πρέπει να αφαιρούνται και να υποβάλλονται σε επεξεργασία για αξιολόγηση τυχόν αλλοιώσεων του μαλακού ιστού (συμπεριλαμβανομένων των οφθαλμών, του εγκεφάλου, των ρινικών διόδων και της γλώσσας), χρησιμοποιώντας τυποποιημένες μεθόδους σειριακής τομής (26) ή κάποια εξίσου ευαίσθητη μέθοδο. Τα σώματα των διαμορφωμένων αυτών εμβρύων και τα υπόλοιπα άθικτα διαμορφωμένα έμβρυα θα πρέπει να υποβάλλονται σε επεξεργασία και να εξετάζονται για σκελετικές αλλοιώσεις, χρησιμοποιώντας τις ίδιες μεθόδους με εκείνες που περιγράφτηκαν για τα τρωκτικά.

2 ΔΕΔΟΜΕΝΑ

2.1 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Τα δεδομένα θα αναφέρονται κατ' άτομο για τις μητέρες καθώς και για τους γόνους τους και θα συνοψίζονται σε μορφή πινάκων, εμφαίνοντας για κάθε ομάδα δοκιμής τον αριθμό των ζώων στην αρχή της δοκιμής, τον αριθμό των ζώων που βρέθηκαν νεκρά κατά τη διάρκεια της δοκιμής ή θανατώθηκαν για ανθρωπιστικούς λόγους, τη χρονική στιγμή κάθε θανάτου ή ανθρωπιστικής θανάτωσης, τον αριθμό των εγγύων θηλυκών, τον αριθμό των ζώων που εμφάνισαν σημεία τοξικότητας, μια περιγραφή των παρατηρηθέντων σημείων τοξικότητας, συμπεριλαμβανομένης της χρονικής στιγμής εμφάνισης, της διάρκειας και της σοβαρότητας κάθε τοξικού αποτελέσματος, τους τύπους των παρατηρήσεων στα έμβρυα/διαμορφωμένα έμβρυα και κάθε σχετικό στοιχείο για τις γέννες.

Τα αριθμητικά αποτελέσματα θα πρέπει να αξιολογούνται με κατάλληλη στατιστική μέθοδο χρησιμοποιώντας τη γέννα ως μονάδα για ανάλυση δεδομένων. Θα πρέπει να χρησιμοποιείται μια γενικώς αποδεκτή στατιστική μέθοδος. Οι στατιστικές μέθοδοι θα πρέπει να επιλέγονται ως τμήμα του σχεδιασμού της μελέτης και θα πρέπει να αιτιολογούνται. Θα πρέπει, επίσης, να αναφέρονται και στοιχεία από ζώα τα οποία δεν επιβιώνουν μέχρι την προγραμματισμένη θανάτωση. Τα στοιχεία αυτά μπορούν να περιλαμβάνονται στους μέσους όρους της ομάδας, όπου είναι σκόπιμο. Η σπουδαιότητα των στοιχείων που λαμβάνονται από τέτοια ζώα και, συνεπώς, η λήψη υπόψη ή ο αποκλεισμός τους από τον ή τους μέσους όρους για κάθε ομάδα, θα πρέπει να αιτιολογείται και να κρίνεται σε ατομική βάση.

2.2 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Τα ευρήματα της μελέτης της προγεννητικής τοξικότητας στην ανάπτυξη θα πρέπει να αξιολογούνται από πλευράς παρατηρούμενων αποτελεσμάτων. Στην αξιολόγηση πρέπει να περιλαμβάνονται οι ακόλουθες πληροφορίες:

— αποτελέσματα των δοκιμών στις μητέρες και στα έμβρυα/διαμορφωμένα έμβρυα, συμπεριλαμβανομένης αξιολόγησης της σχέσης, ή της έλλειψης σχέσεως, μεταξύ της έκθεσης των ζώων στην υπό δοκιμή ουσία και της συχνότητας και σοβαρότητας όλων των ευρημάτων,

— κριτήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την κατηγοριοποίηση εξωτερικών και σκελετικών αλλοιώσεων ή αλλοιώσεων του μαλακού ιστού των διαμορφωμένων εμβρύων, εφόσον έχει γίνει τέτοια κατηγοριοποίηση,

— εφόσον είναι σκόπιμο, ιστορικά μαρτυρικά στοιχεία για ενίσχυση της ερμηνείας των αποτελεσμάτων της μελέτης,

— οι αριθμοί που χρησιμοποιήθηκαν στον υπολογισμό όλων των ποσοστών ή δεικτών,

— κατάλληλη στατιστική ανάλυση των ευρημάτων της μελέτης, όπου είναι σκόπιμο, στην οποία θα πρέπει να περιλαμβάνονται επαρκείς πληροφορίες για τη μέθοδο αναλύσεως, έτσι ώστε να μπορεί να γίνει επαναξιολόγηση και ανασκευή της ανάλυσης από ανεξάρτητο αναθεωρητή/στατιστικολόγο.

Σε κάθε μελέτη που δείχνει απουσία τυχόν τοξικών επιδράσεων, θα πρέπει να εξετάζεται το ενδεχόμενο διενέργειας περαιτέρω ερευνών για εντοπισμό της απορρόφησης και βιοδιαθεσιμότητας της υπό δοκιμή ουσίας.

2.3 ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Η διενέργεια μελέτης προγεννητικής τοξικότητας στην ανάπτυξη παρέχει πληροφορίες για τα αποτελέσματα επανειλημμένης έκθεσης σε μια ουσία κατά τη διάρκεια της κύησης στις μητέρες και στην εντός της μήτρας ανάπτυξη των γόνων τους. Τα αποτελέσματα της μελέτης θα πρέπει να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με τα ευρήματα από μελέτες υποχρόνιας τοξικότητας, αναπαραγωγής, τοξικοκινητικής και άλλες μελέτες. Αφού δίνεται έμφαση τόσο στη γενική τοξικότητα από πλευράς μητρικής τοξικότητας όσο και στα τελικά τοξικά αποτελέσματα στην ανάπτυξη, τα αποτελέσματα της μελέτης επιτρέπουν σε ένα ορισμένο βαθμό να γίνει διάκριση μεταξύ των αποτελεσμάτων στην ανάπτυξη που επέρχονται απουσία γενικής τοξικότητας και εκείνων που προκαλούνται μόνον σε επίπεδα τα οποία είναι τοξικά και στη μητέρα (27).

3 ΈΚΘΕΣΗ

3.1 ΕΚΘΕΣΗ ΔΟΚΙΜΗΣ

Στην έκθεση δοκιμής θα πρέπει να περιλαμβάνονται οι ακόλουθες ειδικές πληροφορίες:

Υπό δοκιμή ουσία:

— φυσική κατάσταση και, όπου είναι σκόπιμο, φυσικοχημικές ιδιότητες
— ταυτοποίηση, συμπεριλαμβανομένου του αριθμού CAS, αν είναι γνωστός/υπάρχει
— καθαρότητα

Φορέας (αν χρησιμοποιείται):

— αιτιολόγηση επιλογής του συγκεκριμένου φορέα, αν είναι άλλος από νερό

Υπό δοκιμή ζώα:

— χρησιμοποιούμενο είδος και φυλή
— αριθμός και ηλικία των ζώων
— προέλευση, συνθήκες στέγασης, διαιτολόγιο, κλπ
— επιμέρους βάρη ζώων κατά την έναρξη της δοκιμής

Συνθήκες δοκιμής:

— λογική αιτιολόγηση της επιλογής των επιπέδων δόσεων
— λεπτομέρειες για το παρασκεύασμα της υπό δοκιμή ουσίας/τροφής, επιτυγχανόμενη συγκέντρωση, σταθερότητα και ομοιογένεια του παρασκευάσματος
— λεπτομέρειες για τη χορήγηση της υπό δοκιμή ουσίας
— αναγωγή από τη συγκέντρωση της υπό δοκιμή ουσίας στην τροφή/πόσιμο νερό (ppm) στην πραγματική δόση (mg/kg βάρους σώματος/ημέρα), εφόσον γίνεται
— περιβαλλοντικές συνθήκες
— λεπτομέρειες ποιότητας τροφής και νερού

Αποτελέσματα:

Στοιχεία σχετικά με τη μητρική τοξική απόκριση κατά δόση, στα οποία πρέπει να συμπεριλαμβάνονται, χωρίς αυτό να αποκλείει την αναφορά και άλλων στοιχείων:

— ο αριθμός των ζώων στην έναρξη της δοκιμής, ο αριθμός των επιβιωσάντων ζώων, ο αριθμός των εγγύων και ο αριθμός των αποβολών, καθώς και ο αριθμός των ζώων με πρόωρο τοκετό
— η ημέρα θανάτου κατά τη διάρκεια της μελέτης ή αν τα ζώα επέζησαν μέχρι τέλος
— στοιχεία από ζώα που δεν επιβιώνουν μέχρι την προγραμματισμένη θανάτωση θα πρέπει να αναφέρονται αλλά να μην περιλαμβάνονται στις στατιστικές συγκρίσεις μεταξύ ομάδων
— η ημέρα παρατήρησης κάθε μη φυσιολογικού κλινικού σημείου και η εν συνεχεία εξέλιξη
— τα σωματικά βάρη, η μεταβολή των σωματικών βαρών και των βαρών εγγύων μητρών συμπεριλαμβανομένων, ενδεχομένως, και των μεταβολών σωματικών βαρών διορθωμένων βάσει του βάρους των εγγύων μητρών,
— η κατανάλωση τροφής και, εφόσον μετριόταν, και η κατανάλωση νερού
— τα ευρήματα της νεκροψίας, συμπεριλαμβανομένου του βάρους των μητρών
— θα πρέπει να αναφέρονται οι τιμές NOAEL για τη μητρική και αναπτυξιακή τοξικότητα.

Αναπτυξιακά τελικά σημεία κατά δόση για γέννες με εμφυτεύματα, συμπεριλαμβανομένων:

— του αριθμού των ωχρών σωματίων
— του αριθμού των εμφυτεύσεων, του αριθμού και του ποσοστού των ζώντων και νεκρών διαμορφωμένων εμβρύων και απορροφήσεων
— του αριθμού και ποσοστού των προ και μετά εμφύτευση απωλειών

Αναπτυξιακά τελικά σημεία κατά δόση για γέννες με ζώντα διαμορφωμένα έμβρυα, συμπεριλαμβανομένων:

— του αριθμού και ποσοστού των ζώντων γόνων
— της αναλογίας μεταξύ φύλων
— του βάρους του σώματος των διαμορφωμένων εμβρύων, κατά προτίμηση κατά φύλο και ασχέτως φύλου
— των εξωτερικών, σκελετικών και δυσπλασιών του μαλακού ιστού και άλλων σχετικών αλλοιώσεων
— των κριτηρίων κατηγοριοποίησης, αν έγινε
— του συνολικού αριθμού και ποσοστού διαμορφωμένων εμβρύων και γεννών με εξωτερικές, σκελετικές ή αλλοιώσεις του μαλακού ιστού, καθώς επίσης και των τύπων και συχνότητας επιμέρους ανωμαλιών και άλλων σχετικών αλλοιώσεων.

Συζήτηση των αποτελεσμάτων.

Συμπεράσματα.

4 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

(1) Kavlock R.J. et al. (1996) A Simulation Study of the Influence of Study Design on the Estimation of Benchmark Doses for Developmental Toxicity. *Risk Analysis* 16; 399-410.

(2) Kimmel, C.A. and Francis, E.Z. (1990) Proceedings of the Workshop on the Acceptability and Interpretation of Dermal Developmental Toxicity Studies. *Fundamental and Applied Toxicology* 14; 386-398.

(3) Wong, B.A., et al. (1997) Developing Specialized Inhalation Exposure Systems to Address Toxicological Problems. *CIIT Activities* 17; 1-8.

(4) US Environmental Protection Agency (1985) Subpart E-Specific Organ/Tissue Toxicity, 40 CFR 798.4350: Inhalation Developmental Toxicity Study.

(5) Salewski, E. (1964) Faerbermethode zum Makroskopischen Nachweis von Implantations Stellen am Uterusder Ratte. *Naunyn-Schmeidebergs Archiv fur Pharmakologie und Experimentelle Pathologie* 247:367.

(6) Edwards, J.A. (1968) The external Development of the Rabbit and Rat Embryo. In *Advances in Teratology*. D.H.M. Woolam (ed.) Vol. 3. Academic Press, NY.

(7) Inouye, M. (1976) Differential Staining of Cartilage and Bone in Fetal Mouse Skeleton by Alcian Blue and Alizarin Red S. *Congenital Anomalies* 16; 171-173.

(8) Igarashi, E. et al. (1992) Frequency Of Spontaneous Axial Skeletal Variations Detected by the Double Staining Techniquefor Ossified and Cartilaginous Skeleton in Rat Foetuses. *Congenital Anomalies* 32; :381-391.

(9) Kimmel, C.A. et al. (1993) Skeletal Development Following Heat Exposure in the Rat. *Teratology* 47:229-242.

(10) Marr, M.C. et al. (1988) Comparison of Single and Double Staining for Evaluation of Skeletal Development: The Effects of Ethylene Glycol (EG) in CD Rats. *Teratology* 37; 476.

(11) Barrow, M.V. and Taylor, W.J. (1969) A Rapid Method for Detecting Malformations in Rat Foetuses. *Journal of Morphology* 127:291-306.

(12) Fritz, H. (1974) Prenatal Ossification in Rabbits ss Indicative of Foetal Maturity. *Teratology* 11; 313-320.

(13) Gibson, J.P. et al. (1966) Use of the Rabbit in Teratogenicity Studies. *Toxicology and Applied Pharmacology* 9; :398-408.

(14) Kimmel, C.A. and Wilson, J.G. (1973) Skeletal Deviation in Rats: Malformations or Variations? *Teratology* 8; 309-316.

(15) Marr, M.C. et al. (1992) Developmental Stages of the CD (Sprague-Dawley) Rat Skeleton after Maternal Exposure to Ethylene Glycol. *Teratology* 46; 169-181.

(16) Monie, I.W. et al. (1965) Dissection Procedures for Rat Foetuses Permitting Alizarin Red Staining of Skeleton and Histological Study of Viscera. *Supplement to Teratology Workshop Manual*, pp. 163-173.

(17) Spark, C. and Dawson, A.B. (1928) The Order and Time of appearance of Centers of Ossification in the Fore and Hind Limbs of the Albino Rat, with Special Reference to the Possible Influence of the Sex Factor. *American Journal of Anatomy* 41; 411-445.

(18) Staples, R.E. and Schnell, V.L. (1964) Refinements in Rapid Clearing Technique in the KOH-Alizarin Red S Method for Fetal Bone. *Stain Technology* 39; 61-63.

(19) Strong, R.M. (1928) The Order Time and Rate of Ossification of the Albino Rat (Mus Norvegicus Albinus) Skeleton. *American Journal of Anatomy* 36; 313-355.

(20) Stuckhardt, J.L. and Poppe, S.M. (1984) Fresh Visceral Examination of Rat and Rabbit Foetuses Used in Teratogenicity Testing. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis* 4; 181-188.

(21) Walker, D.G. and Wirtschafter, Z.T. (1957) *The Genesis of the Rat Skeleton*. Thomas, Springfield, IL.

(22) Wilson, J.G. (1965) Embryological Considerations in Teratology. In *Teratology: Principles and Techniques*, Wilson J.G. and Warkany J. (eds). University of Chicago, Chicago, IL, pp 251-277.

(23) Wilson, J.G. and Fraser, F.C. (eds). (1977) *Handbook of Teratology*, Vol. 4. Plenum, NY.

(24) Varnagy, L. (1980) Use of Recent Fetal Bone Staining Techniques in the Evaluation of Pesticide Teratogenicity. *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.* 28; 233-239.

(25) Staples, R.E. (1974) Detection of visceral Alterations in Mammalian Foetuses. *Teratology* 9; 37-38.

(26) Van Julsingha, E.B. and C.G. Bennett (1977) A Dissecting Procedure for the Detection of Anomalies in the Rabbit Foetal Head. In: *Methods in Prenatal Toxicology* Neubert, D., Merker, H.J. and Kwasigroch, T.E. (eds.). University of Chicago, Chicago, IL, pp. 126-144.

(27) US Environmental Protection Agency (1991) Guidelines for Developmental Toxicity Risk Assessment. *Federal Register* 56; 63798-63826.

(28) Wise, D.L. et al. (1997) Terminology of Developmental Abnormalities in Common Laboratory Mammals (Version 1) Teratology 55; 249-292.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2Ζ

Β.35. ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ ΔΥΟ ΓΕΝΕΩΝ

1. **ΜΕΘΟΔΟΣ**

Η παρούσα μέθοδος αποτελεί αναπαραγωγή της OECD TG 416 (2001).

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παρούσα μέθοδος δοκιμής στην αναπαραγωγή δύο γενεών σχεδιάστηκε για την παροχή γενικών πληροφοριών σχετικά με τα αποτελέσματα μιας υπό δοκιμή ουσίας στην ακεραιότητα και συμπεριφορά των αναπαραγωγικών συστημάτων αρσενικών και θηλυκών, συμπεριλαμβανομένης της λειτουργίας των γονάδων, του κύκλου του οίστρου, των επιδόσεων στο ζευγάρωμα, της σύλληψης, της κύησης, του τοκετού, της γαλουχίας και του απογαλακτισμού, καθώς και της αύξησης και ανάπτυξης των γόνων. Η μελέτη μπορεί επίσης να παράσχει πληροφορίες και για τις επιδράσεις της υπό δοκιμή ουσίας στη νοσηρότητα των νεογνών, τη θνησιμότητα, καθώς και προκαταρκτικά στοιχεία για την προ- και μεταγεννητική τοξικότητα στην ανάπτυξη και να χρησιμεύσει ως οδηγός για μεταγενέστερες δοκιμές. Εκτός από τη μελέτη της αύξησης και ανάπτυξης της γενεάς F1, η παρούσα μέθοδος δοκιμής αποσκοπεί και στην αξιολόγηση της ακεραιότητας και συμπεριφοράς των αρσενικών και θηλυκών συστημάτων αναπαραγωγής, καθώς και της αύξησης και ανάπτυξης της γενεάς F2. Για περαιτέρω πληροφορίες σχετικά με την τοξικότητα στην ανάπτυξη και τις λειτουργικές ανεπάρκειες μπορεί, ή στο παρόν πρωτόκολλο να ενταχθούν πρόσθετα τμήματα μελέτης, στηριζόμενα, ανάλογα, στις μεθόδους για την τοξικότητα και/ή την νευροτοξικότητα στην ανάπτυξη, ή τα τελικά αυτά σημεία μπορούν να μελετηθούν σε ξεχωριστές μελέτες, χρησιμοποιώντας τις κατάλληλες μεθόδους δοκιμής.

1.2 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΗΣ

Η υπό δοκιμή ουσία χορηγείται σε διαβαθμισμένες δόσεις σε ορισμένες ομάδες αρσενικών και θηλυκών. Στα αρσενικά της γενεάς P η χορήγηση θα πρέπει να γίνεται κατά τη διάρκεια της αύξησης και για ένα τουλάχιστον πλήρη σπερματογενετικό κύκλο (περίπου 56 ημέρες στους ποντικούς και 70 ημέρες στους επίμυες) για τη διαπίστωση τυχόν δυσμενών επιδράσεων στη σπερματογένεση. Οι επιδράσεις στο σπέρμα προσδιορίζονται από έναν αριθμό παραμέτρων του σπέρματος (π.χ., μορφολογία και κινητικότητα του σπέρματος) και στην παρασκευή και λεπτομερή ιστοπαθολογία του ιστού. Εάν, από προηγούμενη μελέτη επαναλαμβανόμενων δόσεων ικανής διάρκειας, υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία για τη σπερματογένεση, π.χ. κάποια μελέτη 90 ημερών, τα αρσενικά της γενεάς P δεν χρειάζεται να περιληφθούν στην αξιολόγηση. Συνιστάται, ωστόσο, δείγματα ή ψηφιακές καταγραφές σπέρματος της γενεάς P να φυλλάσσονται, για να μπορεί να γίνει αργότερα αξιολόγηση. Στα θηλυκά της γενεάς P θα πρέπει να γίνεται χορήγηση κατά τη διάρκεια της αύξησης και για μερικούς πλήρεις κύκλους οίστρου για τον εντοπισμό τυχόν δυσμενών επιδράσεων στην κανονικότητα του κύκλου από την υπό δοκιμή ουσία. Η υπό δοκιμή ουσία χορηγείται σε γονικά ζώα (P) κατά τη διάρκεια του ζευγαρώματός τους, κατά τη διάρκεια της επακολουθούσης κυήσεως και μέχρι τον απογαλακτισμό των γόνων τους Fl. Στον απογαλακτισμό, η χορήγηση της ουσίας συνεχίζεται στους γόνους F1 κατά τη διάρκεια της ανάπτυξής τους σε ενήλικα άτομα, στο ζευγάρωμα και στην παραγωγή της γενεάς F2, μέχρις ότου η γενεά F2 απογαλακτιστεί.

Σε όλα τα ζώα γίνονται κλινικές παρατηρήσεις και παθολογικές εξετάσεις για τυχόν σημεία τοξικότητας με ιδιαίτερη έμφαση σε επιδράσεις στην ακεραιότητα και επιδόσεις των αρσενικών και θηλυκών αναπαραγωγικών συστημάτων και στην αύξηση και ανάπτυξη των γόνων.

1.3 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΗΣ

1.3.1 **Επιλογή του είδους του ζώου**

Για τις δοκιμές προτιμούνται οι επίμυες. Εφόσον χρησιμοποιηθεί άλλο είδος, θα πρέπει να δίδεται σχετική αιτιολόγηση και να επιφέρονται οι κατάλληλες αναγκαίες τροποποιήσεις. Δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται φυλές με χαμηλή γονιμότητα ή γνωστή υψηλή συχνότητα εμφάνισης αναπτυξιακών ελαττωμάτων. Κατά την έναρξη της μελέτης, οι διακυμάνσεις στα βάρη των χρησιμοποιούμενων ζώων θα πρέπει να είναι ελάχιστες και να μην υπερβαίνουν το 20% του μέσου βάρους κάθε φύλου.

1.3.2 **Συνθήκες στέγασης και διατροφής**

Η θερμοκρασία στο θάλαμο πειραματισμού των ζώων θα πρέπει να είναι 22^{O}C (± 3^{O}). Αν και η σχετική υγρασία θα πρέπει να είναι τουλάχιστον 30% και, κατά προτίμηση, να μην υπερβαίνει το 70% εκτός κατά τη διάρκεια του καθαρισμού του θαλάμου, στόχος θα πρέπει να είναι μια υγρασία 50-60 %. Ο φωτισμός θα πρέπει να είναι τεχνητός, με εναλλαγή 12 ωρών φωτός και 12 ωρών σκότους. Για τη διατροφή, μπορούν να χρησιμοποιούνται συνήθη εργαστηριακά διαιτολόγια με απεριόριστη παροχή πόσιμου νερού. Η επιλογή του διαιτολογίου μπορεί να εξαρτηθεί από την ανάγκη διασφάλισης κατάλληλου προσμείγματος της υπό δοκιμή ουσίας όταν χορηγείται με τη μέθοδο αυτή.

Τα ζώα μπορούν να στεγάζονται κατ' άτομο ή να είναι σε κλουβιά σε μικρές ομάδες του ίδιου φύλου. Οι διαδικασίες του ζευγαρώματος θα πρέπει να γίνονται σε κλουβιά κατάλληλα για το σκοπό αυτό. Μετά τη συνουσία, τα ζευγαρωμένα θηλυκά πρέπει να τοποθετούνται μόνα τους σε κλουβιά τοκετού ή μητρότητας. Οι ζευγαρωμένοι επίμυες μπορούν, επίσης, να στεγάζονται σε μικρές ομάδες και να χωρίζονται μια ή δύο ημέρες πριν από τον τοκετό. Στα ζευγαρωμένα ζώα πρέπει να παρέχονται κατάλληλα και καθορισμένα υλικά δημιουργίας φωλιών όταν πλησιάζει ο τοκετός.

1.3.3 **Προετοιμασία των ζώων**

Θα πρέπει να χρησιμοποιούνται υγιή νεαρά ζώα, τα οποία να έχουν εγκλιματιστεί στις εργαστηριακές συνθήκες για 5 ημέρες τουλάχιστον και να μην έχουν υποβληθεί σε προηγούμενες πειραματικές διαδικασίες. Τα υπό δοκιμή ζώα θα πρέπει να χαρακτηρίζονται ως προς το είδος, τη φυλή, την προέλευση, το φύλο, το βάρος και/ή την ηλικία. Αν κάποια από τα ζώα είναι αμφιθαλή, αυτό θα πρέπει να είναι γνωστό για να αποφεύγεται το ζευγάρωμα αμφιθαλών ατόμων. Τα ζώα θα πρέπει να εντάσσονται με τυχαίο τρόπο στις ομάδες μαρτυρίας και δοκιμής (συνιστάται η διαβάθμιση κατά σωματικό βάρος). Τα κλουβιά θα πρέπει να τοποθετούνται με τέτοιο τρόπο ώστε να ελαχιστοποιείται το ενδεχόμενο επιδράσεων λόγω της θέσης των κλουβιών. Σε κάθε ζώο θα πρέπει να δίνεται ένας αποκλειστικός αριθμός αναγνώρισης. Για τη γενεά P, αυτό θα πρέπει να γίνεται πριν από την έναρξη της χορήγησης. Για τη γενεά F1, αυτό θα πρέπει να γίνεται στον απογαλακτισμό σε ζώα που επιλέγονται για ζευγάρωμα. Για όλα τα επιλεγόμενα ζώα F1, θα πρέπει να τηρούνται αρχεία εμφαίνοντα τη γέννα προέλευσης. Επιπλέον, συνιστάται η κατ' άτομο αναγνώριση των νεογνών αμέσως μετά τη γέννηση, εφόσον προβλέπεται το ατομικό ζύγισμα των νεογνών ή τυχόν λειτουργικές δοκιμές.

Τα γονικά (P) ζώα πρέπει να είναι ηλικίας περίπου 5 έως 9 εβδομάδων κατά την έναρξη της χορήγησης. Τα ζώα όλων των ομάδων δοκιμής πρέπει, κατά το δυνατόν, να έχουν ομοιόμορφο βάρος και ηλικία.

1.4 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1.4.1 **Αριθμός και φύλο των ζώων**

Κάθε ομάδα δοκιμής και μαρτυρίας θα πρέπει να περιλαμβάνει ικανό αριθμό ζώων ώστε τα έγγυα θηλυκά ζώα που θα φθάσουν σε τοκετό ή πλησίον του τοκετού να μην είναι, κατά προτίμηση, λιγότερα από 20. Στην περίπτωση ουσιών που προκαλούν ανεπιθύμητα αποτελέσματα σχετιζόμενα με την αγωγή (π.χ. στειρότητα, υπερβολική τοξικότητα στην υψηλή δόση), αυτό μπορεί να μην είναι δυνατόν. Στόχος είναι η επίτευξη ικανού αριθμού κυήσεων ώστε να διασφαλιστεί η με σημαντικότητα αξιολόγηση των δυνατοτήτων της ουσίας να επηρεάσει τη γονιμότητα, την κύηση και τη μητρική συμπεριφορά και θηλασμό, την αύξηση και ανάπτυξη των γόνων F1 από τη σύλληψη μέχρι την ωριμότητα, και την ανάπτυξη των γόνων τους (F2) μέχρι τον απογαλακτισμό. Συνεπώς, τυχόν αδυναμία επίτευξης του επιθυμητού αριθμού εγγύων ζώων (δηλ. 20) δεν ακυρώνει, κατ' ανάγκη, τη μελέτη και θα πρέπει να αξιολογείται κατά περίπτωση.

1.4.2 **Ετοιμασία των δόσεων**

Συνιστάται η υπό δοκιμή ουσία να χορηγείται από το στόμα (με την τροφή, το πόσιμο νερό ή με διασωλήνωση), εκτός κι αν θεωρείται ως καταλληλότερη κάποια άλλη οδός χορήγησης (π.χ. από το δέρμα ή με εισπνοή).

Όταν είναι αναγκαίο, η υπό δοκιμή ουσία διαλύεται ή λαμβάνει τη μορφή εναιωρήματος σε κατάλληλο φορέα. Συνιστάται, οσάκις είναι δυνατό, να εξετάζεται πρώτα η δυνατότητα χρήσης υδατικού διαλύματος/εναιωρήματος, κατόπιν το ενδεχόμενο διαλύματος/γαλακτώματος σε λάδι (π.χ. αραβοσιτέλαιο) και, τέλος, η χρήση διαλύματος σε άλλους φορείς. Για φορείς άλλους εκτός από το νερό, πρέπει να είναι γνωστά τα τοξικά χαρακτηριστικά του φορέα. Θα πρέπει να προσδιορίζεται η σταθερότητα της υπό δοκιμή ουσίας στο φορέα.

1.4.3 **Δοσολογία**

Θα πρέπει να χρησιμοποιούνται τρία τουλάχιστον επίπεδα δόσεων και ένας συντρέχων μάρτυρας. Εκτός κι αν υπάρχουν περιορισμοί λόγω της φυσικής/χημικής φύσεως ή των βιολογικών ιδιοτήτων της υπό δοκιμή ουσίας, η μέγιστη δόση θα πρέπει να επιλέγεται με στόχο να προκαλεί κάποια τοξική δράση αλλά όχι θάνατο ή σοβαρή ταλαιπωρία. Σε περίπτωση μη αναμενόμενης θνησιμότητας, μελέτες με δείκτη θνησιμότητας μικρότερο από το 10% περίπου στα γονικά (P) ζώα είναι κανονικά αποδεκτές. Θα πρέπει να επιλέγεται μια φθίνουσα σειρά επιπέδων δόσεων με σκοπό την κατάδειξη κάθε απόκρισης σχετικής με τη δοσολογία και του επιπέδου μη παρατήρησης δυσμενών επιδράσεων (NOAEL). Για τη διαμόρφωση της φθίνουσας σειράς επιπέδων δόσεων, ο καλύτερος συχνά τρόπος είναι η χρησιμοποίηση διπλών ή τετραπλών διαστημάτων, ενώ η προσθήκη μιας τέταρτης ομάδας δοκιμής είναι συχνά προτιμότερη από τη χρησιμοποίηση πολύ μεγάλων διαστημάτων (π.χ. με συντελεστή άνω του 10) μεταξύ των δόσεων. Για τις μελέτες διατροφής, το μεταξύ των δόσεων διάστημα δεν θα πρέπει να υπερβαίνει το τριπλάσιο. Τα επίπεδα των δόσεων θα πρέπει να επιλέγονται λαμβάνοντας υπόψη όλα τα υφιστάμενα δεδομένα τοξικότητας, ιδιαίτερα αποτελέσματα από μελέτες επαναλαμβανόμενης δοσολογίας. Θα πρέπει, επίσης, να εξετάζεται κάθε διαθέσιμη πληροφορία για το μεταβολισμό και την κινητική της υπό δοκιμή ουσίας ή συναφών ουσιών. Επιπλέον, οι πληροφορίες αυτές βοηθούν και στην κατάδειξη της καταλληλότητας της δοσολογικής αγωγής.

Η ομάδα μαρτυρίας πρέπει να είναι ομάδα ζώων μη υποβληθέντων σε αγωγή ή ομάδα ζώων που υποβλήθηκαν σε αγωγή με φορέα εφόσον, για τη χορήγηση της υπό δοκιμή ουσίας, χρησιμοποιείται φορέας. Πλην της αγωγής με την υπό δοκιμή ουσία, τα ζώα στην ομάδα μαρτυρίας θα πρέπει να έχουν την ίδια ακριβώς μεταχείριση με εκείνη των ζώων της ομάδας δοκιμής. Εάν χρησιμοποιείται φορέας, η χορήγηση του φορέα θα πρέπει να γίνεται στο μέγιστο χρησιμοποιούμενο όγκο. Εάν μια υπό δοκιμή ουσία χορηγείται με την τροφή και προκαλεί μειωμένη λήψη ή χρήση τροφής, τότε μπορεί να κριθεί ως αναγκαία η χρήση ομάδας μαρτύρων διατρεφομένων σε ζεύγη. Εναλλακτικώς, αντί της χρησιμοποίησης συντρέχουσας ομάδας μαρτύρων διατροφής σε ζεύγη, μπορούν να χρησιμοποιηθούν στοιχεία από μελέτες μαρτυρίας σχεδιασμένες για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της μειωμένης κατανάλωσης τροφής στις παραμέτρους της αναπαραγωγής.

Θα πρέπει να δίδεται προσοχή στα ακόλουθα χαρακτηριστικά του φορέα και άλλων προσθέτων: επιδράσεις στην απορρόφηση, την κατανομή, το μεταβολισμό ή την κατακράτηση της υπό δοκιμή ουσίας, επιδράσεις στις χημικές ιδιότητες της υπό δοκιμή ουσίας που μπορεί να μεταβάλουν τις τοξικές της ιδιότητες και επιδράσεις στην κατανάλωση τροφής ή νερού ή της διατροφικής κατάστασης των ζώων.

1.4.4 **Δοκιμή ορίου**

Εάν δοκιμή με ένα μοναδικό επίπεδο δόσης τουλάχιστον 1000 mg/kg βάρους σώματος/ημέρα από το στόμα ή, στην περίπτωση χορήγησης με την τροφή ή το πόσιμο νερό, με ισοδύναμο ποσοστό ουσίας στην τροφή ή στο πόσιμο νερό και χρησιμοποιώντας τις διαδικασίες που περιγράφονται για την παρούσα μελέτη, δεν εμφανίζει κάποια αντιληπτή τοξική δράση στα γονικά ζώα ή στους γόνους τους και εφόσον, από τα υφιστάμενα δεδομένα από ουσίες με παρόμοια δομή και/ή μεταβολισμό, δεν αναμένεται η εμφάνιση τέτοιας δράσης, τότε μπορεί να κριθεί ως μη αναγκαία η διενέργεια πλήρους μελέτης με διάφορα επίπεδα δόσεων. Η δοκιμή ορίου εφαρμόζεται εκτός όταν, από την έκθεση του ανθρώπου, διαφαίνεται η ανάγκη χρησιμοποίησης υψηλότερου επιπέδου δόσης από το στόμα. Σε άλλους τρόπους χορήγησης, όπως η εισπνοή ή η δερματική επίθεση, από τις φυσικοχημικές ιδιότητες της υπό δοκιμή ουσίας όπως π.χ. η διαλυτότητα μπορεί, συχνά, να υπάρχουν κάποιες ενδείξεις ή περιορισμοί ως προς το μέγιστο εφικτό επίπεδο έκθεσης.

1.4.5 **Χορήγηση δόσεων**

Η χορήγηση της υπό δοκιμή ουσίας στα ζώα θα πρέπει να γίνεται σε επταήμερη βάση εβδομαδιαίως. Ως οδός χορήγησης προτιμάται η χορήγηση από το στόμα (τροφή, πόσιμο νερό ή διασωλήνωση). Εάν χρησιμοποιηθεί κάποια άλλη οδός χορήγησης, θα πρέπει να παρέχεται σχετική αιτιολόγηση και να επιφέρονται οι αναγκαίες κατάλληλες τροποποιήσεις. Κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου, η χορήγηση σε όλα τα ζώα θα πρέπει να γίνεται με την ίδια μέθοδο. Οταν η υπό δοκιμή ουσία χορηγείται με διασωλήνωση, αυτό θα πρέπει να γίνεται χρησιμοποιώντας στομαχικό σωλήνα. Ο όγκος του υγρού που χορηγείται κάθε φορά δεν θα πρέπει να υπερβαίνει το 1 ml/100 g βάρους σώματος (στην περίπτωση του αραβοσιτελαίου, το μέγιστο είναι 0.4 ml/100 g βάρους σώματος), εκτός στην περίπτωση υδατικών διαλυμάτων όπου μπορεί να χρησιμοποιηθούν 2 ml/100 g βάρους σώματος. Εκτός στην περίπτωση ερεθιστικών ή διαβρωτικών ουσιών, οι οποίες κανονικά εμφανίζουν αυξημένη δράση σε υψηλότερες συγκεντρώσεις, οι διακυμάνσεις στον όγκο δοκιμής θα πρέπει να ελαχιστοποιούνται ρυθμίζοντας τη συγκέντρωση έτσι ώστε να διασφαλίζεται σταθερός όγκος σε όλα τα επίπεδα δόσεων. Σε μελέτες με διασωλήνωση, τα νεογνά λαμβάνουν κανονικά υπό δοκιμή ουσία μόνον εμμέσως μέσω του γάλακτος, μέχρις ότου αρχίσει η απευθείας χορήγηση γι' αυτά στον απογαλακτισμό. Σε

μελέτες με τροφή ή πόσιμο νερό, τα νεογνά λαμβάνουν επιπροσθέτως υπό δοκιμή ουσία απευθείας όταν αρχίζουν να τρώνε μόνα τους κατά τη διάρκεια της τελευταίας εβδομάδας της περιόδου της γαλουχίας.

Για ουσίες που χορηγούνται μέσω της τροφής ή του πόσιμου νερού, είναι σημαντικό να διασφαλίζεται οι ποσότητες της χορηγούμενης υπό δοκιμή ουσίας να μη παρεμβαίνουν στο κανονικό ισοζύγιο διατροφής ή νερού. Όταν η υπό δοκιμή ουσία χορηγείται με την τροφή, μπορεί να χρησιμοποιείται είτε μια σταθερή συγκέντρωση στην τροφή (ppm) είτε ένα σταθερό επίπεδο δόσης βάσει σωματικού βάρους του ζώου. Τυχόν χρησιμοποιούμενος εναλλακτικός τρόπος πρέπει να προσδιορίζεται. Στην περίπτωση ουσίας που χορηγείται με διασωλήνωση, η δόση θα πρέπει να δίνεται τις ίδιες ώρες κάθε μέρα και να προσαρμόζεται τουλάχιστον κάθε εβδομάδα ώστε να διατηρείται ένα σταθερό επίπεδο δόσης βάσει του σωματικού βάρους του ζώου. Κατά την προσαρμογή της με διασωλήνωση δόσεως με βάση το βάρος, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη τυχόν στοιχεία σχετικά με την κατανομή στον πλακούντα.

1.4.6 **Χρονοδιαγράμματα πειραμάτων**

Η καθημερινή χορήγηση στα γονικά (Ρ) αρσενικά και θηλυκά πρέπει να αρχίζει όταν είναι ηλικίας 5 έως 9 εβδομάδων. Η καθημερινή χορήγηση στα αρσενικά και θηλυκά F1 πρέπει να αρχίζει στον απογαλακτισμό. Πρέπει να έχουμε κατά νου ότι στις περιπτώσεις χορήγησης της υπό δοκιμή ουσίας μέσω της τροφής ή του πόσιμου νερού, ενδέχεται να συμβαίνει ήδη κατά τη διάρκεια της περιόδου της γαλουχίας απευθείας έκθεση των νεογνών F1 στην υπό δοκιμή ουσία. Και για τα δύο φύλα (Ρ και F1), η χορήγηση πρέπει να συνεχίζεται για 10 τουλάχιστον εβδομάδες πριν από την περίοδο του ζευγαρώματος. Η χορήγηση συνεχίζεται και στα δύο φύλα κατά τη διάρκεια της περιόδου των 2 εβδομάδων του ζευγαρώματος. Τα αρσενικά θα πρέπει να θανατώνονται ανθρωπιστικά και να εξετάζονται όταν δεν χρειάζονται πλέον για εκτίμηση των επιδράσεων στην αναπαραγωγή. Για τα γονικά (Ρ) θηλυκά, η χορήγηση θα πρέπει να συνεχίζεται καθ' όλη την κύηση και μέχρι τον απογαλακτισμό των γόνων F1. Θα πρέπει να εξετάζεται η τυχόν πραγματοποίηση τροποποιήσεων στο χρονοδιάγραμμα χορήγησης με βάση διαθέσιμες πληροφορίες για την υπό δοκιμή ουσία, συμπεριλαμβανομένων των υφισταμένων δεδομένων τοξικότητας, μεταβολισμού ή βιοσυσσώρευσης. Η δόση σε κάθε ζώο θα πρέπει κανονικά να βασίζεται στον πλέον πρόσφατο κατ' άτομο προσδιορισμό του σωματικού βάρους. Ωστόσο, θα πρέπει να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή όταν η δόση προσαρμόζεται κατά τη διάρκεια του τελευταίου τριμήνου της κυήσεως.
Η χορήγηση στα αρσενικά και θηλυκά Ρ και F1 πρέπει να συνεχίζεται μέχρι τέλους. Ολα τα ενήλικα αρσενικά και θηλυκά Ρ και F1 θα πρέπει να θανατώνονται ανθρωπιστικά όταν δεν χρειάζονται πλέον για εκτίμηση των αποτελεσμάτων στην αναπαραγωγή. Οι γόνοι F1 που δεν επιλέγονται για ζευγάρωμα και όλοι οι γόνοι F2 θα πρέπει να θανατώνονται ανθρωπιστικά μετά τον απογαλακτισμό.

1.4.7 **Διαδικασία ζευγαρώματος**

1.4.7.1 *Ζευγάρωμα γονικών ατόμων (Ρ)*

Σε κάθε ζευγάρωμα, κάθε θηλυκό πρέπει να τοποθετείται μαζί με ένα μόνο αρσενικό από το ίδιο επίπεδο δόσεως (ζευγάρωμα 1:1) μέχρι να υπάρξει συνουσία ή μέχρι να περάσουν 2 εβδομάδες. Κάθε μέρα, τα θηλυκά πρέπει να εξετάζονται για παρουσία σπέρματος ή κολπικών βυσμάτων. Ως ημέρα 0 της κυήσεως ορίζεται η ημέρα κατά την οποία θα βρεθεί κολπικό βύσμα ή σπέρμα. Σε περίπτωση που το ζευγάρωμα αποδειχθεί ανεπιτυχές, πρέπει να εξετάζεται το ξαναζευγάρωμα των θηλυκών με ελεγμένα αρσενικά της ίδιας ομάδας. Στα δεδομένα, τα ζεύγη που ζευγάρωσαν θα πρέπει να αναγνωρίζονται σαφώς. Θα πρέπει να αποφεύγεται το ζευγάρωμα αμφιθαλών ατόμων.

1.4.7.2 *Ζευγάρωμα F1*

Για το ζευγάρωμα των γόνων F1, θα πρέπει να επιλέγονται τουλάχιστον ένα αρσενικό και ένα θηλυκό στον απογαλακτισμό από κάθε γέννα για ζευγάρωμα με άλλα νεογνά του ίδιου επιπέδου δόσεως αλλά διαφορετικής γέννας, για τη λήψη της γενεάς F2. Η επιλογή νεογνών από κάθε γέννα θα πρέπει να είναι τυχαία όταν δεν παρατηρούνται σημαντικές διαφορές στο βάρος του σώματος ή στην εμφάνιση μεταξύ των ατόμων της γέννας. Στην περίπτωση που παρατηρούνται τέτοιες διαφορές, θα πρέπει να επιλέγονται οι καλύτεροι εκπρόσωποι κάθε γέννας. Αντικειμενικά, αυτό επιτυγχάνεται καλύτερα με βάση το βάρος του σώματος, μπορεί όμως να είναι σκοπιμότερο να γίνεται βάσει εμφανίσεως. Οι γόνοι F1 δεν θα πρέπει να ζευγαρώνονται μέχρι να έλθουν σε πλήρη σεξουαλική ωρίμανση.

Τα χωρίς απογόνους ζεύγη θα πρέπει να αξιολογούνται για να προσδιορίζεται η προφανής αιτία της μη γονιμότητας. Αυτό μπορεί να γίνει με διαδικασίες όπως η παροχή πρόσθετων ευκαιριών για ζευγάρωμα με άλλα αρσενικά ή θηλυκά, μικροσκοπική εξέταση των οργάνων αναπαραγωγής και εξέταση των κύκλων οίστρου ή σπερματογένεσης.

1.4.7.3 *Δεύτερο ζευγάρωμα*

Σε ορισμένες περιπτώσεις, όπως στην περίπτωση αλλαγών στο μέγεθος της γέννας λόγω της αγωγής ή παρατήρησης διφορούμενου αποτελέσματος στο πρώτο ζευγάρωμα, συνιστάται τα ενήλικα P ή F1 να ξαναζευγαρώνονται για τη λήψη δεύτερης γέννας. Συνιστάται να ξαναζευγαρώνονται θηλυκά ή αρσενικά, τα οποία να μην έχουν δώσει γέννα με αποδεδειγμένους γεννήτορες του αντίθετου φύλου. Εάν και στις δύο γενεές κριθεί αναγκαία η λήψη δεύτερης γέννας, τα ζώα θα πρέπει να ξαναζευγαρώνονται περίπου μια εβδομάδα μετά τον απογαλακτισμό της τελευταίας γέννας.

1.4.7.4 *Μέγεθος γέννας*

Τα ζώα πρέπει να αφήνονται να γεννούν κανονικά και να μεγαλώνουν τους γόνους τους μέχρι τον απογαλακτισμό. Η τυποποίηση των μεγεθών των γεννών είναι προαιρετική. Οταν πραγματοποιείται τυποποίηση, η χρησιμοποιούμενη μέθοδος θα πρέπει να περιγράφεται λεπτομερώς.

1.5 ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

1.5.1 **Κλινικές παρατηρήσεις**

Κάθε μέρα θα πρέπει να πραγματοποιείται γενική κλινική παρατήρηση ενώ, στην περίπτωση χορήγησης με διασωλήνωση, για το χρόνο πραγματοποίησής της θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η προβλεπόμενη περίοδος κορύφωσης των επιδράσεων μετά τη χορήγηση. Θα πρέπει να καταγράφονται τυχόν αλλαγές στη συμπεριφορά, σημεία δύσκολου ή παρατεταμένου τοκετού και κάθε σημάδι τοξικότητας. Σε εβδομαδιαία, τουλάχιστον, βάση θα πρέπει να διεξάγεται μια πρόσθετη, λεπτομερέστερη εξέταση κάθε ζώου, η οποία μπορεί να γίνεται για ευκολία με την ευκαιρία της ζύγισης του ζώου. Δύο φορές ημερησίως και κατά τη διάρκεια του σαββατοκύριακου άπαξ ημερησίως εφόσον δεν τίθεται πρόβλημα, όλα τα ζώα θα πρέπει να παρατηρούνται για νοσηρότητα και θνησιμότητα.

1.5.2 **Βάρος σώματος και κατανάλωση τροφής/νερού από τους γονείς**

Τα γονικά ζώα (P και Fl) πρέπει να ζυγίζονται την πρώτη ημέρα της χορήγησης και κάθε εβδομάδα τουλάχιστον στη συνέχεια. Τα γονικά θηλυκά (P και F1) πρέπει να ζυγίζονται τουλάχιστον κατά τις ημέρες 0, 7, 14 και 20 ή 21 της κυήσεως και κατά τη διάρκεια της γαλουχίας τις ίδιες ημέρες με το ζύγισμα των νεογνών και κατά την ημέρα που θανατώνονται τα ζώα. Οι παρατηρήσεις αυτές θα πρέπει να αναφέρονται ξεχωριστά για κάθε ενήλικο ζώο. Κατά τη διάρκεια των περιόδων πριν από το ζευγάρωμα και κατά την κύηση θα πρέπει να μετριέται τουλάχιστον κάθε εβδομάδα η κατανάλωση τροφής. Η κατανάλωση νερού πρέπει να μετριέται κάθε βδομάδα τουλάχιστον εάν η υπό δοκιμή ουσία χορηγείται με το νερό.

1.5.3 **Κύκλος οίστρου**

Το μήκος και η κανονικότητα του κύκλου του οίστρου αξιολογούνται στα θηλυκά P και F1 από τα κολπικά επιχρίσματα πριν από το ζευγάρωμα και, προαιρετικώς, κατά τη διάρκεια του ζευγαρώματος μέχρι να βρεθεί ότι έγινε το ζευγάρωμα. Όταν λαμβάνονται κολπικά/τραχηλικά κύτταρα, θα πρέπει να λαμβάνεται πρόνοια να αποφεύγεται τυχόν διαταραχή στους βλεννογόνους και η πρόκληση, κατά συνέπεια, ψευδοκυήσεως (1).

1.5.4 **Παράμετροι σπέρματος**

Για όλα τα αρσενικά P και F1 στο τέλος της μελέτης, πρέπει να καταγράφεται το βάρος των όρχεων και των επιδιδυμίδων και ένα από κάθε όργανο να κρατιέται για ιστοπαθολογική εξέταση (βλ. τμήμα 1.5.7, 1.5.8.1). Από υποσύνολο δέκα τουλάχιστον αρσενικών από κάθε ομάδα P και F1 αρσενικών, οι απομένοντες όρχεις και επιδιδυμίδες θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για την καταμέτρηση των ανθεκτικών στην ομοιογενοποίηση σπερμοβλαστών και σπερματικού αποθέματος της ουράς της επιδιδυμίδας, αντίστοιχα. Από το ίδιο υποσύνολο αρσενικών, θα πρέπει να συλλέγεται για εκτίμηση της κινητικότητας και μορφολογίας των σπερματοζωαρίων, σπέρμα από την ουρά της επιδιδυμίδος ή από τον σπερματικό πόρο. Εάν παρατηρούνται επιδράσεις σχετικές με την αγωγή ή όταν υπάρχουν ενδείξεις από άλλες μελέτες για πιθανές επιδράσεις στη σπερματογένεση, θα

πρέπει να διεξάγεται αξιολόγηση σπέρματος σε όλα τα αρσενικά σε κάθε ομάδα δόσης. Αλλως, η καταμέτρηση μπορεί να περιοριστεί στα αρσενικά P και F1 των ομάδων μαρτυρίας και υψηλής δόσης.

Θα πρέπει να μετριέται ο συνολικός αριθμός των ανθεκτικών σε ομοιογενοποίηση ορχικών σπερματιδών και σπερματοζωαρίων της ουράς της επιδιδυμίδος (2)(3). Τα αποθέματα σπέρματος της ουράς μπορεί να προέρχονται από τη συγκέντρωση και όγκο σπέρματος στο εναιώρημα που χρησιμοποιείται για την ολοκλήρωση των ποιοτικών αξιολογήσεων και από τον αριθμό των σπερματοζωαρίων που ανακτώνται από εν συνεχεία κατατεμαχισμό και/ή ομοιογενοποίηση του παραμένοντος ιστού ουράς. Η καταμέτρηση θα πρέπει να γίνεται στο επιλεγμένο υποσύνολο αρσενικών όλων των δοσολογικών ομάδων αμέσως μετά τη θανάτωση των ζώων εκτός κι αν γίνουν οπτικές ή ψηφιακές καταγραφές ή αν τα δοκίμια καταψυχθούν και αναλυθούν αργότερα. Στις περιπτώσεις αυτές, οι μάρτυρες και η ομάδα υψηλής δόσης μπορεί να αναλυθούν πρώτα. Εάν δεν εντοπιστούν φαινόμενα επιδράσεων προερχομένων από την αγωγή (π.χ. επιδράσεις στον αριθμό των σπερματοζωαρίων, στην κινητικότητα ή στη μορφολογία), οι υπόλοιπες δοσολογικές ομάδες δεν χρειάζεται να αναλυθούν. Οταν στην ομάδα υψηλής δόσης εντοπίζονται σημεία επιδράσεων σχετικών με την αγωγή, τότε θα πρέπει να αξιολογούνται και οι ομάδες με χαμηλότερη δόση.

Αμέσως μετά τη θυσία θα πρέπει να αξιολογείται ή να βιντεοσκοπείται η κινητικότητα του σπέρματος της επιδιδυμίδος (ή του σπερματικού πόρου). Το σπέρμα θα πρέπει να ανακτάται με τις μικρότερες δυνατές ζημιές και να αραιώνεται για ανάλυση κινητικότητας χρησιμοποιώντας αποδεκτές μεθόδους (4). Θα πρέπει να προσδιορίζεται, είτε υποκειμενικώς είτε αντικειμενικώς, το ποσοστό των προοδευτικώς αυθορμήτως κινουμένων σπέρματοζωαρίων. Οταν εκτελείται υποβοηθούμενη από υπολογιστή ανάλυση κινήσεως (5)(6)(7)(8)(9)(10), η παραγωγοποίηση της προοδευτικής κινητικότητας εξαρτάται από τα καθοριζόμενα από το χρήστη κατώφλια μέσης ταχύτητας διαδρομής και ευθύτητας ή γραμμικού δείκτη. Εάν τα δείγματα βιντεοσκοπηθούν (11) ή οι εικόνες καταγραφούν με κάποιον άλλο τρόπο κατά το χρόνο της νεκροψίας, μπορεί στη συνέχεια να πραγματοποιηθεί ανάλυση μόνον των ομάδων μαρτυρίας και υψηλής δόσεως των αρσενικών P και F1 εκτός κι αν παρατηρηθούν σχετικές με την αγωγή επιδράσεις. Στην τελευταία περίπτωση, θα πρέπει να αξιολογηθούν και οι ομάδες με χαμηλότερη δόση. Αν δεν υπάρχει βιντεοσκοπημένη ή ψηφιακή εικόνα, όλα τα δείγματα σε όλες τις ομάδες αγωγής θα πρέπει να αναλυθούν στη νεκροψία.

Θα πρέπει να εκτελείται μορφολογική αξιολόγηση δείγματος σπέρματος της επιδιδυμίδος (ή του σπερματικού πόρου). Το σπέρμα (200 τουλάχιστον σπερματοζωάρια ανά δείγμα) θα πρέπει να εξετάζεται ως σταθεροποιημένο, υγρό παρασκεύασμα (12) και να ταξινομείται ως κανονικό ή μη κανονικό. Παραδείγματα μορφολογικών ανωμαλιών των σπερματοζωαρίων είναι η σύντηξη, η ύπαρξη απομονωμένων κεφαλών και η ύπαρξη παραμορφωμένων κεφαλών και/ή ουρών. Η αξιολόγηση θα πρέπει να γίνεται στο επιλεγμένο υποσύνολο αρσενικών όλων των δοσολογικών ομάδων είτε αμέσως μετά τη θανάτωση των ζώων, είτε με βάση τις βιντεοσκοπημένες ή ψηφιακές καταγραφές σε κάποιο μεταγενέστερο χρόνο. Επιχρίσματα, εφόσον στερεωθούν, μπορούν και αυτά να εξεταστούν σε κάποιο μεταγενεστέρο χρόνο. Στις περιπτώσεις αυτές, οι μάρτυρες και η ομάδα υψηλής δόσης μπορούν να αναλυθούν πρώτα. Εάν δεν εντοπιστούν επιδράσεις σχετικές με την αγωγή (π.χ. επιδράσεις στη μορφολογία των σπερματοζωαρίων), δεν χρειάζεται να αναλυθούν οι υπόλοιπες δοσολογικές ομάδες. Όταν στην ομάδα υψηλής δόσης εντοπιστούν επιδράσεις σχετιζόμενες με την αγωγή, τότε θα πρέπει να αξιολογούνται και οι ομάδες με χαμηλότερη δόση.

Εάν οποιαδήποτε από τις ανωτέρω παραμέτρους αξιολόγησης του σπέρματος έχουν ήδη εξεταστεί ως τμήμα μελέτης συστεμικής τοξικότητας τουλάχιστον 90 ημερών, δεν χρειάζεται κατ' ανάγκη να επαναληφθούν στη μελέτη δύο γενεών. Συνιστάται, ωστόσο, να φυλαχθούν δείγματα ή ψηφιακές καταγραφές σπέρματος της γενεάς P, για να μπορεί να γίνει αργότερα, αν χρειάζεται, αξιολόγηση.

1.5.5 **Γόνοι**

Κάθε γέννα θα πρέπει να εξετάζεται το συντομότερο δυνατό μετά τον τοκετό (ημέρα γαλουχίας 0) για να προσδιορίζεται ο αριθμός και το φύλο των νεογνών, τα γεννηθέντα νεκρά, τα γεννηθέντα ζώντα και αν υπάρχουν μακροσκοπικές ανωμαλίες. Τα νεογνά που βρέθηκαν νεκρά την ημέρα 0, αν δεν εμβραχούν, θα πρέπει κατά προτίμηση να εξετάζονται για πιθανά ελαττώματα και για την αιτία θανάτου και να συντηρούνται. Τα ζώντα νεογνά θα πρέπει να καταμετρώνται και να ζυγίζονται κατ' άτομο με τη γέννηση (ημέρα γαλουχίας 0) ή την 1η ημέρα, και στη συνέχεια σε τακτές ημέρες ζύγισης, π.χ., τις ημέρες 4, 7, 14 και 21 της γαλουχίας. Τυχόν παρατηρούμενες φυσικές ανωμαλίες ή ανωμαλίες στη συμπεριφορά των μητέρων ή των γόνων τους, θα πρέπει να καταγράφονται.

Η φυσική ανάπτυξη των γόνων θα πρέπει να παρακολουθείται μέσω, κυρίως, της καταγραφής της αύξησης του σωματικού βάρους. Ορισμένες άλλες φυσικές παράμετροι (π.χ. το άνοιγμα των αυτιών και των ματιών, η έκφυση των δοντιών, η αύξηση του τριχώματος) μπορούν να δώσουν συμπληρωματικές πληροφορίες, τα στοιχεία όμως αυτά θα πρέπει, κατά προτίμηση, να αξιολογούνται στα πλαίσια στοιχείων για τη σεξουαλική ωρίμανση (π.χ. ηλικία και σωματικό βάρος στο κολπικό άνοιγμα ή στο βαλανοποσθικό διαχωρισμό) (13). Εάν

δεν προβλέπεται η διενέργεια λειτουργικών ερευνών (π.χ. κινητικότητα, αισθητήριος λειτουργία, οντογονία ανακλαστικών) σε ξεχωριστές μελέτες, συνιστάται η διενέργεια τέτοιων ερευνών στους γόνους F1 πριν και/ή μετά τον απογαλακτισμό, ιδιαίτερα για λειτουργίες που αφορούν τη σεξουαλική ωρίμανση. Στα απογαλακτισμένα άτομα F1 που επιλέγονται για ζευγάρωμα θα πρέπει να προσδιορίζεται η ηλικία του κολπικού ανοίγματος και του ποσθικού διαχωρισμού. Την ημέρα 0 μετά τη γέννηση στα νεογνά F2 θα πρέπει να μετριέται η πρωκτογεννητική απόσταση, εάν επηρεάζεται από διαφοροποιήσεις στη αναλογία φύλων ή το χρόνο σεξουαλικής ωρίμανσης των ατόμων F1.

Οι παρατηρήσεις σχετικά με τις λειτουργίες μπορούν να παραλείπονται σε ομάδες οι οποίες, ούτως ή άλλως, εμφανίζουν σαφή δείγματα δυσμενών αποτελεσμάτων (π.χ., ομάδες που κερδίζουν βάρος με σημαντική καθυστέρηση, κλπ). Εάν πραγματοποιηθούν λειτουργικές έρευνες, αυτές δεν θα πρέπει να γίνονται σε νεογνά που έχουν επιλεγεί για ζευγάρωμα.

1.5.6 **Μακροσκοπική νεκροψία**

Με τον τερματισμό ή σε περίπτωση θανάτου κατά τη διάρκεια της μελέτης, όλα τα γονικά ζώα (P και F1), όλα τα νεογνά με εξωτερικές ανωμαλίες ή κλινικά σημεία, καθώς επίσης και ένα τυχαίως επιλεγόμενο νεογνό/φύλο/γέννα και από τις δύο γενεές F1 και F2, πρέπει να εξετάζονται μακροσκοπικώς για τυχόν ανατομικές ανωμαλίες ή παθολογικές διαφορές. Ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δίδεται στα όργανα του αναπαραγωγικού συστήματος. Τα νεογνά που θανατώνονται ανθρωπιστικά επειδή είναι ετοιμοθάνατα και τα νεκρά νεογνά, όταν δεν εμβραχούν, θα πρέπει να εξετάζονται για πιθανά ελαττώματα και/ή την αιτία θανάτου και να συντηρούνται.

Οι μήτρες όλων των πρωτοτόκων θηλυκών θα πρέπει να εξετάζονται, κατά τρόπο που να μη διακυβεύεται η ιστοπαθολογική αξιολόγηση, ως προς την ύπαρξη και τον αριθμό εμφυτεύσεων.

1.5.7 **Βάρη οργάνων**

Κατά το πέρας της μελέτης, θα πρέπει να προσδιορίζονται το βάρος σώματος και το βάρος των ακόλουθων οργάνων όλων των P και F1 γονικών ζώων (τα όργανα που είναι σε ζεύγη θα πρέπει να ζυγίζονται ξεχωριστά):

— Μήτρα, ωοθήκες
— Όρχεις, επιδιδυμίδες (σύνολο και ουρά)
— Προστάτης
— Σπερματοδόχοι κύστεις με πηκτικούς αδένες και τα υγρά τους και τον προστάτη (ως μία μονάδα)
— Εγκέφαλος, σηκώτι, νεφρά, σπλήνα, υπόφυση, θυρεοειδής αδένας και επινεφρίδια και γνωστά όργανα στόχοι.

Θα πρέπει να προσδιορίζονται τα τελικά βάρη σώματος των νεογνών F1 και F2 που επιλέγονται για νεκροψία ενώ, από το ένα τυχαίως επιλεγόμενο νεογνό/φύλο/γέννα (βλ. τμήμα 1.5.6) πρέπει να ζυγίζονται τα ακόλουθα όργανα: εγκέφαλος, σπλήνα και θύμος αδένας.

Εφόσον είναι εφικτό, τα αποτελέσματα της μακροσκοπικής νεκροψίας και των βαρών των οργάνων θα πρέπει να αξιολογούνται στα πλαίσια παρατηρήσεων από άλλες μελέτες επανειλημμένων δόσεων.

1.5.8 **Ιστοπαθολογία**

1.5.8.1 *Γονικά ζώα*

Τα ακόλουθα όργανα και ιστοί γονικών (P και F1) ζώων, ή αντιπροσωπευτικά δείγματά τους, πρέπει να στερεώνονται και να φυλάσσονται σε κατάλληλο μέσο για ιστοπαθολογική εξέταση.

— Κόλπος, μήτρα με τράχηλο και ωοθήκες (διατηρούμενα σε κατάλληλο στερεωτικό)
— Ενας όρχις (διατηρούμενος σε υγρό Bouin ή παρόμοιο στερεωτικό), μια επιδιδυμίδα, σπερματοδόχοι κύστεις, προστάτης και πηκτικός αδένας
— Προηγουμένως ταυτοποιημένα όργανα στόχοι από όλα τα P και F1 ζώα, που επιλέγηκαν για ζευγάρωμα.

Θα πρέπει να εκτελείται πλήρης ιστοπαθολογική εξέταση των διατηρουμένων οργάνων και ιστών που αναφέρονται παραπάνω για όλα τα ζώα, μάρτυρες και ομάδας υψηλής δόσης, P και F1 που επελέγησαν για ζευγάρωμα. Η εξέταση των ωοθηκών των ζώων P είναι προαιρετική. Οργανα που εμφανίζουν αλλοιώσεις

σχετιζόμενες με την αγωγή θα πρέπει να εξετάζονται και στις ομάδες χαμηλής και μεσαίας δόσης για να υποβοηθείται η εύρεση του NOAEL. Επιπλέον, αναπαραγωγικά όργανα των ζώων των ομάδων χαμηλής και μεσαίας δόσης, για τα οποία υπάρχουν υπόνοιες μειωμένης γονιμότητας, π.χ., εκείνα τα οποία απέτυχαν να ζευγαρώσουν, να συλλάβουν, να γεννήσουν ή να παράσχουν υγιείς απογόνους, ή στα οποία επηρεάστηκε ο κύκλος του οίστρου ή ο αριθμός, η κινητικότητα ή η μορφολογία των σπερματοζωαρίων, θα πρέπει να υποβάλλονται σε ιστοπαθολογική αξιολόγηση. Πρέπει να εξετάζονται όλες οι μακροσκοπικές αλλοιώσεις όπως ατροφία ή όγκοι.

Θα πρέπει να πραγματοποιείται λεπτομερής ιστοπαθολογική εξέταση των όρχεων (π.χ. χρησιμοποιώντας στερεωτικό Bouin, ενσωμάτωση σε παραφίνη και εγκάρσιες τομές πάχους 4-5μm) για τον εντοπισμό επιδράσεων σχετιζόμενων με την αγωγή όπως κατακρατούμενες σπερματίδες, ελλείπουσες στιβάδες ή τύποι γεννητικών κυττάρων, πολυπυρηνικά γιγαντοκύτταρα ή εσχάρωση σπερμογενών κυττάρων στον αυλό (14). Στην εξέταση της άθικτης επιδιδυμίδος θα πρέπει να περιλαμβάνεται η κεφαλή, το σώμα και η ουρά, εξέταση η οποία μπορεί να συμπληρώνεται με αξιολόγηση μιας διαμήκους τομής. Η επιδιδυμίδα θα πρέπει να εξετάζεται ως προς τη διείσδυση λευκοκυττάρων, τυχόν μεταβολές ως προς τους επικρατούντες κυτταρικούς τύπους, διαμαρτούντες τύπους κυττάρων και φαγοκυττάρωση των σπερματοζωαρίων. Για την εξέταση των αρσενικών αναπαραγωγικών οργάνων μπορούν να χρησιμοποιηθούν οι μέθοδοι PAS και χρώσης αιματοξυλίνης.

Η μετά την γαλουχία ωοθήκη θα πρέπει να περιέχει αρχέγονα και αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια, καθώς και τα μεγάλα ωχρά σωμάτια της γαλουχίας. Ιστοπαθολογική εξέταση θα πρέπει να ανιχνεύει ποιοτική μείωση του αρχέγονου πληθυσμού ωοθυλακίων. Στα θηλυκά F1 θα πρέπει να διεξάγεται ποσοτική αξιολόγηση των αρχέγονων ωοθυλακίων. Ο αριθμός των ζώων, η επιλογή ωοθηκικής τομής και το μέγεθος του δείγματος τομής θα πρέπει να είναι στατιστικώς κατάλληλα για τη χρησιμοποιούμενη διαδικασία αξιολόγησης. Στην εξέταση θα πρέπει να περιλαμβάνεται καταμέτρηση του αριθμού των αρχέγονων ωοθυλακίων, στα οποία μπορούν να προστίθενται τα μικρά αναπτυσσόμενα θυλάκια, για σύγκριση των ωοθηκών ζώων αγωγής και μαρτυρίας (15)(16)(17)(18)(19).

1.5.8.2 *Απογαλακτιζόμενα ζώα*

Μακροσκοπικώς μη φυσιολογικός ιστός και όργανα στόχοι από όλα τα νεογνά με εξωτερικές ανωμαλίες ή κλινικά σημεία, καθώς και από το ένα τυχαίως επιλεγμένο νεογνό/φύλο/γέννα από αμφότερες τις γενεές F1 και F2 που έχουν επιλεγεί για ζευγάρωμα, πρέπει να στερεώνονται και να φυλάσσονται σε κατάλληλο μέσο για ιστοπαθολογική εξέταση. Θα πρέπει να διεξάγεται πλήρης ιστοπαθολογικός χαρακτηρισμός του διατηρημένου ιστού με ιδιαίτερη έμφαση στα όργανα του αναπαραγωγικού συστήματος.

2 ΔΕΔΟΜΕΝΑ

2.1 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Τα δεδομένα θα αναφέρονται κατ' άτομο και θα συνοψίζονται σε μορφή πινάκων, εμφαίνοντας για κάθε ομάδα δοκιμής και για κάθε γενεά τον αριθμό των ζώων στην αρχή της δοκιμής, τον αριθμό των ζώων που βρέθηκαν νεκρά κατά τη διάρκεια της δοκιμής ή θανατώθηκαν για ανθρωπιστικούς λόγους, τη χρονική στιγμή κάθε θανάτου ή ανθρωπιστικής θανάτωσης, τον αριθμό των γόνιμων ζώων, τον αριθμό των εγγύων θηλυκών, τον αριθμό των ζώων που εμφάνισαν σημεία τοξικότητας, μια περιγραφή των παρατηρηθέντων σημείων τοξικότητας, συμπεριλαμβανομένης της χρονικής στιγμής εμφάνισης, της διάρκειας και της σοβαρότητας κάθε τοξικού αποτελέσματος, τους τύπους των παρατηρήσεων στα γονικά άτομα και στους απογόνους, τους τύπους των ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων και κάθε σχετικό στοιχείο για τις γέννες.

Τα αριθμητικά αποτελέσματα θα πρέπει να αξιολογούνται με κατάλληλη, γενικώς αποδεκτή, στατιστική μέθοδο. Οι στατιστικές μέθοδοι θα πρέπει να επιλέγονται ως τμήμα του σχεδιασμού της μελέτης και θα πρέπει να αιτιολογούνται. Για ανάλυση των στοιχείων μπορεί να αποδειχθούν χρήσιμα στατιστικά μοντέλα δόσης-απόκρισης. Η έκθεση θα πρέπει να περιλαμβάνει επαρκείς πληροφορίες για τη μέθοδο ανάλυσης και το χρησιμοποιηθέν πρόγραμμα στον υπολογιστή, έτσι ώστε ένας ανεξάρτητος αναθεωρητής/στατιστικολόγος να μπορεί να επαναξιολογήσει και να ανασκευάσει την ανάλυση.

2.2 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Τα ευρήματα αυτής της μελέτης τοξικότητας στην αναπαραγωγή δύο γενεών θα πρέπει να αξιολογούνται όσον αφορά τις παρατηρούμενες επιδράσεις, συμπεριλαμβανομένων των ευρημάτων της νεκροψίας και της μικροσκοπικής εξέτασης. Στην αξιολόγηση περιλαμβάνεται η σχέση, ή η ανυπαρξία σχέσης, μεταξύ της δόσης της υπό δοκιμή ουσίας και της παρουσίας ή απουσίας, της συχνότητας εμφάνισης και της σοβαρότητας ανωμαλιών, συμπεριλαμβανομένων των μακροσκοπικών αλλοιώσεων, ταυτοποιημένων οργάνων στόχων, επιδράσεων στη γονιμότητα, κλινικών μη φυσιολογικών συμπτωμάτων, επιδράσεων στις επιδόσεις στην αναπαραγωγή και στις γέννες, διαφορών στα σωματικά βάρη, επιδράσεων στη θνησιμότητα και κάθε άλλου τοξικού φαινομένου. Κατά την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων των δοκιμών, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι φυσικοχημικές ιδιότητες της υπό δοκιμή ουσίας και, όταν υπάρχουν διαθέσιμα, δεδομένα τοξικοκινητικής.

Μια σωστά διεξαχθείσα δοκιμή τοξικότητας στην αναπαραγωγή θα πρέπει να προσφέρει μια ικανοποιητική εκτίμηση του επιπέδου μη επίδρασης και κατανόηση των δυσμενών επιδράσεων στην αναπαραγωγή, στον τοκετό, στη γαλουχία και στη μεταγεννητική ανάπτυξη, συμπεριλαμβανομένης της αύξησης και της σεξουαλικής ανάπτυξης.

2.3 ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Η μελέτη τοξικότητας στην αναπαραγωγή δύο γενεών παρέχει πληροφορίες για τις επιπτώσεις της επανειλημμένης έκθεσης σε μια ουσία κατά τη διάρκεια όλων των φάσεων του αναπαραγωγικού κύκλου. Ειδικότερα, η μελέτη παρέχει πληροφορίες για τις παραμέτρους της αναπαραγωγής και για την ανάπτυξη, αύξηση, ωρίμανση και επιβίωση των γόνων. Τα αποτελέσματα της μελέτης θα πρέπει να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με τα ευρήματα μελετών υποχρόνιας τοξικότητας, προγεννητικής τοξικότητας στην ανάπτυξη και τοξικοκινητικής, καθώς και άλλων διαθέσιμων μελετών. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην εκτίμηση της ανάγκης διεξαγωγής περαιτέρω δοκιμών για μια χημική ουσία. Η παρέκταση των αποτελεσμάτων της μελέτης στον άνθρωπο ισχύει σε περιορισμένο βαθμό. Τα αποτελέσματα χρησιμοποιούνται άριστα ως πληροφορίες σχετικά με τα επίπεδα μη επίδρασης και την επιτρεπτή έκθεση του ανθρώπου (20)(21)(22)(23).

3 **ΈΚΘΕΣΗ**

ΕΚΘΕΣΗ ΔΟΚΙΜΗΣ

Στην έκθεση δοκιμής πρέπει να περιλαμβάνονται οι ακόλουθες πληροφορίες:

Υπό δοκιμή ουσία :

— φυσική κατάσταση και, όπου είναι σκόπιμο, φυσικοχημικές ιδιότητες
— στοιχεία ταυτοποίησης
— καθαρότητα

Φορέας (αν χρησιμοποιείται):

— αιτιολόγηση επιλογής του συγκεκριμένου φορέα, αν είναι άλλος από νερό.

Υπό δοκιμή ζώα:

— χρησιμοποιούμενο είδος/φυλή
— αριθμός, ηλικία και φύλο των ζώων
— προέλευση, συνθήκες στέγασης, διαιτολόγιο, υλικά δημιουργίας φωλιάς, κλπ
— επιμέρους βάρη των ζώων κατά την έναρξη της δοκιμής

Συνθήκες δοκιμής:

— λογική αιτιολόγηση της επιλογής των επιπέδων δόσεων
— λεπτομέρειες για το παρασκεύασμα της υπό δοκιμή ουσίας/τροφής, επιτυγχανόμενη συγκέντρωση,
— σταθερότητα και ομοιογένεια του παρασκευάσματος
— λεπτομέρειες για τη χορήγηση της υπό δοκιμή ουσίας
— αναγωγή από τη συγκέντρωση της υπό δοκιμή ουσίας στην τροφή/πόσιμο νερό (ppm) στην πραγματική δόση (mg/kg βάρους σώματος/ημέρα), εφόσον γίνεται

— λεπτομέρειες ποιότητας τροφής και νερού.

Αποτελέσματα:

— κατανάλωση τροφής, και κατανάλωση νερού εφόσον υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία, αποτελεσματικότητα διατροφής (αύξηση σωματικού βάρους ανά γραμμάριο καταναλισκόμενης τροφής) και κατανάλωση ουσίας δοκιμής από ζώα P και F1, εκτός της περιόδου συνοίκησης και του τελευταίου τρίτου τουλάχιστον της γαλουχίας,
— δεδομένα απορρόφησης (εάν υπάρχουν διαθέσιμα),
— δεδομένα σωματικού βάρους για ζώα P και F1, που επιλέγονται για ζευγάρωμα
— στοιχεία βάρους γέννας και νεογνών,
— σωματικό βάρος κατά τη θυσία και δεδομένα απόλυτου και σχετικού βάρους οργάνων για τα γονικά ζώα,
— είδος, σοβαρότητα και διάρκεια κλινικών παρατηρήσεων (αναστρέψιμων ή μη),
— χρονική στιγμή θανάτου κατά τη διάρκεια της μελέτης ή αν τα ζώα επέζησαν μέχρι τέλους,
— δεδομένα τοξικής απόκρισης κατά φύλο και δόση, συμπεριλαμβανομένων δεικτών ζευγαρώματος, γονιμότητας, κυήσεως, γέννησης, βιωσιμότητας και γαλουχίας· στην έκθεση θα πρέπει να αναφέρονται οι αριθμοί που χρησιμοποιήθηκαν στον υπολογισμό αυτών των δεικτών,
— τοξικές ή άλλες επιδράσεις στην αναπαραγωγή, στους γόνους, στη μεταγεννητική αύξηση, κλπ,
— ευρήματα νεκροψίας,
— λεπτομερής περιγραφή όλων των ιστοπαθολογικών ευρημάτων,
— αριθμός P και F1 ζώων με κανονικό κύκλο και μήκος του κύκλου,
— συνολικός αριθμός σπερματοζωαρίων ουράς επιδιδυμίδος, ποσοστό προοδευτικώς αυθορμήτως κινουμένων σπερματοζωαρίων, ποσοστό μορφολογικώς φυσιολογικών σπερματοζωαρίων και ποσοστό σπερματοζωαρίων με κάθε ταυτοποιούμενη ανωμαλία,
— χρόνος για ζευγάρωμα, συμπεριλαμβανομένου του αριθμού των ημερών μέχρι το ζευγάρωμα,
— μήκος κυήσεως,
— αριθμός εμφυτεύσεων, ωχρά σωμάτια, μέγεθος γέννας,
— αριθμός γεννήσεων εν ζωή και μετά την εμφύτευση απώλειες,
— αριθμός νεογνών με μακροσκοπικώς ορατές ανωμαλίες· εφόσον εντοπιστούν, θα πρέπει να αναφέρεται ο αριθμός των καχεκτικών νεογνών,
— δεδομένα για φυσικά επιπολής ορόσημα σε νεογνά και άλλα δεδομένα για τη μεταγεννητική ανάπτυξη· αξιολογούμενα φυσικά επιπολής ορόσημα θα πρέπει να αιτιολογούνται,
— δεδομένα για λειτουργικές παρατηρήσεις σε νεογνά και ενήλικα, αναλόγως,
— στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, όπου είναι σκόπιμο.

Συζήτηση αποτελεσμάτων

Συμπεράσματα, συμπεριλαμβανομένων τιμών NOAEL για τις επιδράσεις στις μητέρες και στους απογόνους.

4 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

(1) Sadleir, R.M.F.S. (1979). Cycles and Seasons, In: *Reproduction in Mammals:* I. Germ Cells and Fertilization, C.R. Auston and R.V. Short (eds.), Cambridge, New York.

(2) Gray, L.E. et al., (1989). A Dose-Response Analysis of Methoxychlor-Induced Alterations of Reproductive Development and Function in the Rat. *Fundamental and Applied Toxicology* 12:92-108.

(3) Robb, G.W. et al., (1978). Daily Sperm Production and Epididymal Sperm Reserves of Pubertal and Adult Rats. *Journal of Reproduction and Fertility* 54:103-107.

(4) Klinefelter, G.R. et al., (1991). The Method of Sperm Collection Significantly Influences Sperm Motion Parameters Following Ethane Dimethanesulfonate Administration in the Rat. *Reproductive Toxicology* 5:39 44

(5) Seed, J. et al. (1996). Methods for Assessing Sperm Motility, Morphology, and Counts in the Rat, Rabbit, and Dog: a Consensus Report. *Reproductive Toxicology* 10(3):237- 244.

(6) Chapin, R.E. et al., (1992).Methods for Assessing Rat Sperm Motility. *Reproductive Toxicology* 6:267-273

(7) Klinefelter, G.R. et al., (1992). Direct Effects of Ethane Dimethanesulphonate on Epididymal Function in Adult Rats: an *In Vitro* Demonstration. *Journal of Andrology* 13:409-421.

(8) Slott, V.L. et al., (1991). Rat Sperm Motility Analysis: Methodologic Considerations. *Reproductive Toxicology* 5:449-458.

(9) Slott, V.L. and Perreault, S.D., (1993). Computer-Assisted Sperm Analysis of Rodent Epididymal Sperm Motility Using the Hamilton-Thorn Motility Analyzer. In: *Methods in Toxicology,* Part A., Academic, Orlando, Florida. pp. 319-333.

(10) Toth, G.P. et al. (1989). The Automated Analysis of Rat Sperm Motility Following Subchronic Epichlorhydrin Administration: Methodologic and Statistical Considerations. Journal of Andrology 10: 401-415.

(11) Working, P.K. and M. Hurtt, (1987). Computerized Videomicrographic Analysis of Rat Sperm Motility. Journal of Andrology 8:330-337.

(12) Linder, R.E. et al., (1992). Endpoints of Spermatoxicity in the Rat After Short Duration Exposures to Fourteen Reproductive Toxicants. Reproductive Toxicology 6:491-505.

(13) Korenbrot, C.C. et al., (1977). Preputial Separation as an External Sign of Pubertal Development in the Male Rat. Biological Reproduction 17:298303.

(14) Russell, L.D. et al., (1990). Histological and Histopathological Evaluation of the Testis, Cache River Press, Clearwater, Florida.

(15) Heindel, J.J. and R.E. Chapin, (eds.) (1993). Part B. Female Reproductive Systems, Methods in Toxicology, Academic, Orlando, Florida.

(16) Heindel, J.J. et al., (1989) Histological Assessment of Ovarian Follicle Number in Mice As a Screen of Ovarian Toxicity. In: Growth Factors and the Ovary, A.N. Hirshfield (ed.), Plenum, New York, pp. 421-426.

(17) Manson, J.M. and Y.J. Kang, (1989). Test Methods for Assessing Female Reproductive and Developmental Toxicology. In: Principles and Methods of Toxicology, A.W. Hayes (ed.), Raven, New York.

(18) Smith, B.J. et al,. (1991). Comparison of Random and Serial Sections in Assessment of Ovarian Toxicity. Reproductive Toxicology 5:379-383.

(19) Heindel, J.J. (1999). Oocyte Quantitation and Ovarian Histology. In: An Evaluation and Interpretation of Reproductive Endpoints for Human Health Risk Assessment, G. Daston,. and C.A. Kimmel, (eds.), ILSI Press, Washington, DC.

(20) Thomas, J. A. (1991). Toxic Responses of the Reproductive System. In: Casarett and Doull's Toxicology, M.O. Amdur, J. Doull, and C.D. Klaassen (eds.), Pergamon, New York.

(21) Zenick, H. and E.D. Clegg, (1989). Assessment of Male Reproductive Toxicity: A Risk Assessment Approach. In: Principles and Methods of Toxicology, A.W. Hayes (ed.), Raven Press, New York.

(22) Palmer, A.K. (1981). In: Developmental Toxicology, Kimmel, C.A. and J. Buelke-Sam (eds.), Raven Press, New York.

(23) Palmer, A.K. (1978). In Handbook of Teratology, Vol. 4, J.G. Wilson and F.C. Fraser (eds.), Plenum Press, New York.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2Η

B.42. ΕΥΑΙΣΘΗΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ: ΤΟΠΙΚΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΛΕΜΦΑΔΕΝΩΝ

1. Η ΜΕΘΟΔΟΣ

Η παρούσα μέθοδος δοκιμών είναι ισοδύναμη με την κατευθυντήρια γραμμή δοκιμών TG 429 (2002) του ΟΟΣΑ.

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η τοπική δοκιμασία λεμφαδένων (Local Lymph Node Assay/LLNA) επικυρωθεί και είναι αποδεκτή επαρκώς, ώστε να δικαιολογείται η θέσπισή της ως νέας μεθόδου (1)(2)(3). Πρόκειται για μια δεύτερη μέθοδο εκτίμησης του δερματικού ευαισθητοποιητικού δυναμικού των χημικών ουσιών στα ζώα. Η άλλη μέθοδος (B.6) χρησιμοποιεί δοκιμές σε ινδικά χοιρίδια, ειδικότερα στη δοκιμή μεγιστοποίησης σε ινδικά χοιρίδια και τη δοκιμή Buehler (4).

Η LLNA παρέχει μια εναλλακτική μέθοδο για τον εντοπισμό χημικών ουσιών που προκαλούν δερματική ευαισθητοποίηση και για την επιβεβαίωση της απουσίας από μια χημική ουσία σημαντικού δυναμικού δερματικής ευαισθητοποίησης. Αυτό δεν σημαίνει κατ' ανάγκην ότι η LLNA πρέπει να χρησιμοποιείται σε κάθε περίπτωση αντί της δοκιμής σε ινδικά χοιρίδια, αλλά μάλλον ότι είναι εφάμιλλη της τελευταίας και μπορεί να χρησιμοποιείται ως εναλλακτική λύση, η οποία κατά κανόνα δεν απαιτεί περαιτέρω επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων, θετικών και αρνητικών.

Η LLNA προσφέρει ορισμένα πλεονεκτήματα τόσο από πλευράς επιστημονικής προόδου, όσο και σε σχέση με την προστασία των ζώων. Μελετά την επαγωγική φάση της δερματικής ευαισθητοποίησης και παρέχει κατάλληλα ποσοτικά δεδομένα για την εκτίμηση της απόκρισης σε σχέση με τη δόση. Έχουν δημοσιευθεί λεπτομερείς περιγραφές της επικύρωσης της LLNA, καθώς και επισκόπηση των σχετικών εργασιών (5)(6)(7)(8). Επιπλέον, επισημαίνεται ότι οι ασθενείς/μέτριες ευαισθητοποιητικές ουσίες που συνιστάται να χρησιμοποιούνται ως θετικοί μάρτυρες στις μεθόδους δοκιμών σε ινδικά χοιρίδια, είναι κατάλληλες και για την LLNA (6)(8)(9).

Η LLNA είναι μέθοδος *in vivo* και, επομένως, δεν καταργεί τη χρήση ζώων στην εκτίμηση της ευαισθητοποιητικής δραστικότητας εξ επαφής. Είναι ωστόσο ικανή να περιορίσει τον αριθμό των ζώων που απαιτούνται για το σκοπό αυτό. Επιπλέον, βελτιώνει ουσιαστικά τον τρόπο με τον οποίο χρησιμοποιούνται τα ζώα στις δοκιμές ευαισθητοποίησης εξ επαφής. Η LLNA βασίζεται στα ανοσολογικά συμβάντα που προκαλούν οι χημικές ουσίες κατά την επαγωγική φάση της ευαισθητοποίησης. Σε αντίθεση με τις δοκιμές σε ινδικά χοιρίδια, η LLNA δεν απαιτεί την εκδήλωση των προκαλούμενων/επαγόμενων αντιδράσεων δερματικής υπερευαισθησίας. Επίσης, η LLNA δεν απαιτεί τη χρήση ανοσοενισχυτικών, όπως η δοκιμή μεγιστοποίησης σε ινδικά χοιρίδια. Κατ' αυτόν τον τρόπο, η LLNA περιορίζει τη δυσφορία των ζώων. Παρά τα πλεονεκτήματά της έναντι των κλασικών δοκιμών σε ινδικά χοιρίδια, πρέπει να αναγνωριστεί ότι υπάρχουν ορισμένοι περιοριστικοί παράγοντες, που ενδέχεται να επιβάλλουν τη διεξαγωγή κλασικών δοκιμών σε ινδικά χοιρίδια (π.χ., ψευδαρνητικά ευρήματα κατά την LLNA με ορισμένα μέταλλα, ψευδοθετικά ευρήματα με ορισμένες ερεθιστικές για το δέρμα ουσίες)(10).

Βλ. επίσης Εισαγωγή για το Μέρος Β.

1.2 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΩΝ

Η βασική αρχή στην οποία στηρίζεται η LLNA είναι ότι οι ευαισθητοποιητικές χημικές ουσίες επάγουν πρωτογενή πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων των λεμφαδένων που αποχετεύουν το σημείο εφαρμογής τους. Ο πολλαπλασιασμός αυτός είναι ανάλογος με την εφαρμοζόμενη δόση (και με την ισχύ του αλλεργιογόνου) και αποτελεί ένα απλό μέσο αντικειμενικής, ποσοτικής μέτρησης της ευαισθητοποίησης. Στην LLNA ο εν λόγω πολλαπλασιασμός εκτιμάται ως σχέση δόσης-απόκρισης με σύγκριση του φαινομένου μεταξύ των ομάδων δοκιμής και ομάδων μαρτύρων που υποβάλλονται σε αγωγή μόνο με το φορέα της ουσίας. Προσδιορίζεται ο λόγος του πολλαπλασιασμού στις ομάδες δοκιμής προς τον αντίστοιχο στις ομάδες μάρτυρες, ο οποίος καλείται δείκτης διέγερσης και πρέπει να ισούται τουλάχιστον με 3 για να χαρακτηριστεί μια ελεγχόμενη ουσία ως δυνάμει ευαισθητοποιητική του δέρματος. Στη μέθοδο που περιγράφεται στο παρόν, χρησιμοποιείται ραδιοσήμανση για τη μέτρηση του πολλαπλασιασμού των κυττάρων. Επιτρέπεται, ωστόσο, η χρήση και άλλων τελικών σημείων για την εκτίμηση του πολλαπλασιασμού, με την προϋπόθεση ότι είναι δικαιολογημένη και τεκμηριώνεται από κατάλληλα επιστημονικά στοιχεία, μεταξύ των οποίων πλήρεις βιβλιογραφικές παραπομπές και περιγραφή της μεθοδολογίας.

1.3 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΩΝ

1.3.1 **Προετοιμασίες**

1.3.1.1 *Συνθήκες στέγασης και διατροφής*

Τα ζώα πρέπει να στεγάζονται χωριστά. Η θερμοκρασία του θαλάμου πειραματοζώων πρέπει να είναι 22ºC (±3ºC). Αν και η σχετική υγρασία πρέπει να είναι τουλάχιστον 30% και, κατά προτίμηση, να μην υπερβαίνει το 70%, εκτός από τις περιόδους καθαρισμού του θαλάμου, εν τούτοις ο στόχος θα πρέπει να είναι μια τιμή 50-60%. Ο φωτισμός πρέπει να είναι τεχνητός, με εναλλαγή φωτός-σκότους ανά 12ωρο. Για τη διατροφή των ζώων μπορούν να χρησιμοποιούνται τα συνήθη εργαστηριακά σιτηρέσια, με απεριόριστη παροχή πόσιμου νερού.

1.3.1.2 *Προετοιμασία των ζώων*

Τα ζώα επιλέγονται τυχαία, σημαίνονται με τρόπο που επιτρέπει την αναγνώριση του καθενός (αλλά όχι με αναγνωριστικό ενώτιο) και παραμένουν στα κλουβιά τους τουλάχιστον για πέντε ημέρες πριν από την έναρξη της χορήγησης των δόσεων, ώστε να εγκλιματιστούν στις εργαστηριακές συνθήκες. Πριν από την έναρξη της αγωγής, εξετάζονται όλα τα ζώα για να είναι βέβαιο ότι δεν παρουσιάζουν εμφανείς βλάβες του δέρματος.

1.3.2 **Συνθήκες δοκιμής**

1.3.2.1 *Πειραματόζωα*

Το είδος που έχει επιλεγεί για τη συγκεκριμένη δοκιμή είναι ο ποντικός. Χρησιμοποιούνται νεαροί ενήλικες θηλυκοί ποντικοί της φυλής CBA/Ca ή CBA/J, που δεν έχουν ποτέ γεννήσει ούτε εγκυμονούν. Κατά την έναρξη της μελέτης, η ηλικία των ζώων πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 8 και 12 εβδομάδων και οι διαφορές βάρους μεταξύ τους να είναι ελάχιστες και να μην υπερβαίνουν το 20% της μέσης τιμής. Επιτρέπεται η χρήση άλλων φυλών, καθώς και αρσενικών ζώων, εφόσον έχουν συγκεντρωθεί επαρκή δεδομένα, από τα οποία προκύπτει ότι δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές απόκρισης κατά την LLNA, οφειλόμενες ειδικά στη φυλή ή/και το φύλο.

1.3.2.2 *Έλεγχος αξιοπιστίας*

Για να καταδειχθούν η ορθή εκτέλεση της δοκιμασίας και η ικανότητα του εργαστηρίου να τη διεξάγει με επιτυχία, χρησιμοποιούνται θετικοί μάρτυρες. Ένας θετικός μάρτυρας θα πρέπει να δίδει θετική απόκριση κατά την LLNA σε επίπεδα έκθεσης τα οποία αναμένεται να προκαλέσουν αύξηση του δείκτη διέγερσης (SI) σε τιμή >3 σε σύγκριση με την ομάδα αρνητικού μάρτυρα. Η δόση του θετικού μάρτυρα θα πρέπει να επιλέγεται κατά τρόπον ώστε να έχει ως αποτέλεσμα σαφή, αλλά όχι υπερβολική επαγωγή. Οι προτιμώμενες ουσίες είναι η εξυλοκινναμωμική αλδεΰδη (αριθ. CAS 101-86-0, αριθ. EINECS 202-983-3) και το μερκαπτο-βενζοθειαζόλιο (αριθ CAS 149-30-4, αριθ EINECS 205-736-8). Σε ορισμένες, δεόντως αιτιολογημένες περιπτώσεις, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μάρτυρες άλλες ουσίες, που πληρούν τα προαναφερόμενα κριτήρια. Αν και συνήθως απαιτείται ομάδα θετικού μάρτυρα σε κάθε δοκιμασία, ενδέχεται να υπάρχουν περιπτώσεις όπου τα εργαστήρια δοκιμών διαθέτουν ιστορικό δεδομένων για θετικό μάρτυρα, από τα οποία προκύπτει σταθερή ικανοποιητική απόκριση για χρονικό διάστημα έξι μηνών ή και μεγαλύτερο. Στις περιπτώσεις αυτές, μπορεί να είναι σκόπιμο να διεξάγονται δοκιμές με θετικούς μάρτυρες σε αραιότερα διαστήματα, όχι πάντως μεγαλύτερα των έξι μηνών. Παρόλο που η χρησιμοποιούμενη ως θετικός μάρτυρας ουσία θα πρέπει να ελέγχεται στο φορέα που είναι γνωστό ότι προκαλεί σταθερή απόκριση (π.χ., διάλυμα ελαιολάδου σε ακετόνη), ενδέχεται να υπάρχουν περιπτώσεις όπου οι νομοθετικές ρυθμίσεις επιβάλλουν τη διεξαγωγή δοκιμών και σε μη τυποποιημένο φορέα (κλινικώς/χημικώς συναφές σκεύασμα). Στις περιπτώσεις αυτές, θα πρέπει να ελέγχεται η πιθανή αλληλεπίδραση του θετικού μάρτυρα με τον ασυνήθη φορέα.

1.3.2.3 *Αριθμός ζώων, επίπεδα δόσεων και επιλογή φορέα.*

Χρησιμοποιούνται τουλάχιστον τέσσερα ζώα ανά δοσολογική ομάδα, με τρεις τουλάχιστον συγκεντρώσεις της ελεγχόμενης ουσίας, συν μια ομάδα αρνητικού μάρτυρα, που υποβάλλεται σε αγωγή μόνο με το φορέα της ελεγχόμενης ουσίας, και ένα θετικό μάρτυρα, όπου ενδείκνυται. Στις περιπτώσεις όπου πρόκειται να συγκεντρωθούν δεδομένα για μεμονωμένα ζώα, χρησιμοποιούνται τουλάχιστον πέντε ζώα ανά δοσολογική ομάδα. Ο τρόπος χρήσης των ζώων των ομάδων μαρτύρων, εκτός του ότι αυτά δεν υποβάλλονται σε αγωγή με την ελεγχόμενη ουσία, πρέπει κατά τα άλλα να είναι πανομοιότυπος με των ζώων των ομάδων αγωγής.

Η επιλογή των δόσεων και του φορέα πρέπει να βασίζεται στις συστάσεις της δημοσίευσης (1). Οι δόσεις επιλέγονται από τη σειρά συγκεντρώσεων 100%, 50%, 25%, 10%, 5%, 2,5%, 1%, 0,5% κλπ.. Όταν υπάρχουν δεδομένα οξείας τοξικότητας και δερματικού ερεθισμού, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη στην επιλογή των τριών διαδοχικών συγκεντρώσεων, έτσι ώστε η υψηλότερη συγκέντρωση να μεγιστοποιεί την έκθεση, χωρίς να προκαλεί συστημική τοξικότητα και υπέρμετρο τοπικό ερεθισμό του δέρματος (2)(11).

Ο φορέας πρέπει να επιλέγεται με γνώμονα τη μεγιστοποίηση των ελεγχόμενων συγκεντρώσεων και της διαλυτότητας, με παράλληλο σχηματισμό κατάλληλου διαλύματος/εναιωρήματος για την εφαρμογή της ελεγχόμενης ουσίας. Συνιστώνται οι ακόλουθοι φορείς, κατά σειρά προτίμησης: ακετόνη/ελαιόλαδο (σε αναλογία 4:1 v/v), διμεθυλοφορμαμίδιο, μεθυλ-αιθυλ-κετόνη, προπυλενογλυκόλη και διμεθυλοσουλφοξείδιο (2)(10), χωρίς να αποκλείεται η χρήση άλλων, εφόσον υπάρχει επαρκής επιστημονική αιτιολόγηση. Σε ορισμένες περιπτώσεις, ενδέχεται να απαιτείται η χρήση ως πρόσθετου μάρτυρα, κλινικώς συναφούς διαλύτη ή

του σκευάσματος του εμπορίου με τη μορφή του οποίου διατίθεται στην αγορά η ελεγχόμενη ουσία. Θα πρέπει να λαμβάνεται ιδιαίτερη μέριμνα για την ενσωμάτωση υδρόφιλων υλών σε ένα σύστημα φορέα το οποίο διαβρέχει το δέρμα και δεν απορρέει αμέσως. Κατά συνέπεια, οι εξ ολοκλήρου υδατικοί φορείς θα πρέπει να αποφεύγονται.

1.3.3 **Διαδικασία δοκιμής**

1.3.3.1 *Πειραματικό χρονοδιάγραμμα*

Το πειραματικό πρωτόκολλο της δοκιμασίας έχει ως εξής:

- *1η ημέρα:*
  Κάθε ζώο ζυγίζεται χωριστά και το βάρος του καταγράφεται. Στη ραχιαία επιφάνεια κάθε αυτιού τοποθετούνται χωρίς κάλυψη 25μl κατάλληλης αραίωσης της ελεγχόμενης ουσίας, του φορέα μόνου ή του θετικού μάρτυρα (όπου ενδείκνυται).

- *2η και 3η ημέρα:*
  Επαναλαμβάνεται η διαδικασία εφαρμογής της ουσίας όπως την πρώτη ημέρα.

- *4η και 5η ημέρα*:
  Καμία αγωγή.

- *6η ημέρα* :
  Καταγράφεται το βάρος κάθε ζώου. Σε όλους τους ποντικούς, ελεγχόμενους και μάρτυρες, χορηγούνται με ένεση μέσω της ουραίας φλέβας 250μl φυσιολογικού ορού με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών ιόντων (PBS), ο οποίος περιέχει 20 μCi (7,4e + 8 Bq) ^{3}H-μεθυλοθυμιδίνης. Εναλλακτικώς, χορηγούνται σε όλα τα ποντίκια, με ένεση μέσω της ουραίας φλέβας, 250 μL PBS που περιέχει 2 μCi (7,4e + 7 Bq) ^{125}I-ιωδοδεσοξυουριδίνης και φθοροδεσοξυουριδίνη σε συγκέντρωση 10^{-5} M.

  Μετά από πέντε ώρες, τα ζώα θανατώνονται. Εκτέμνονται οι αποχετευτικοί ωτικοί λεμφαδένες από κάθε αυτί και συγκεντρώνονται σε PBS για κάθε ομάδα πειραματοζώων (προσέγγιση συγκέντρωσης κατά ομάδα αγωγής). Εναλλακτικώς, εκτέμνονται ζεύγη λεμφαδένων από μεμονωμένα ζώα και συγκεντρώνονται σε PBS για κάθε ζώο (προσέγγιση μεμονωμένου ζώου). Λεπτομέρειες και διαγράμματα για την αναγνώριση και την εκτομή των λεμφαδένων παρέχονται στο παράρτημα I της δημοσίευσης 10.

1.3.3.2 *Παρασκευή κυτταρικών εναιωρημάτων*

Παρασκευάζεται εναιώρημα μεμονωμένων λεμφοκυττάρων από τους λεμφαδένες που έχουν ληφθεί είτε με συγκέντρωση κατά ομάδα αγωγής είτε συμμετρικά από μεμονωμένα ζώα, με ήπια μηχανική διάσπαση μέσω πλέγματος από ανοξείδωτο χάλυβα με βροχίδες 200 μm. Τα λεμφοκύτταρα εκπλύνονται δύο φορές με περίσσεια PBS και καταβυθίζονται με τριχλωροξικό οξύ (TCA) 5% σε θερμοκρασία 4 °C για 18 ώρες (1). Το ίζημα μεταφέρεται σε φιαλίδια σπινθηρισμών που περιέχουν 10 ml υγρού σπινθηρισμών για απαρίθμηση τριτίου, αφού προηγουμένως παρασκευασθεί εναιώρημά του σε 1 ml TCA, ή μεταφέρεται ως έχει σε σωλήνες απαριθμητή ακτινοβολίας γ για απαρίθμηση ^{125}I.

1.3.3.3 *Προσδιορισμός του πολλαπλασιασμού των κυττάρων [ενσωματωμένη ραδιενέργεια]*

Η ενσωμάτωση ^{3}H-μεθυλοθυμιδίνης μετράται με απαρίθμηση σπινθηρισμών ακτινοβολίας β σε διασπάσεις ανά λεπτό (DPM). Η ενσωμάτωση ^{125}I-ιωδοδεσοξυουριδίνης μετράται με απαρίθμηση ^{125}I επίσης σε DPM. Ανάλογα με την υιοθετούμενη προσέγγιση, η ενσωμάτωση εκφράζεται είτε σε DPM/ομάδα αγωγής (ομαδική προσέγγιση) ή σε DPM/ζώο (ατομική προσέγγιση).

1.3.3.4 *Παρατηρήσεις*

1.3.3.4.1 *Κλινικές παρατηρήσεις*

Τα ζώα πρέπει να εξετάζονται με προσοχή μία φορά ημερησίως για τη διαπίστωση τυχόν κλινικών συμπτωμάτων είτε τοπικού ερεθισμού στο σημείο εφαρμογής της ελεγχόμενης ουσίας είτε συστημικής τοξικότητας. Όλες οι παρατηρήσεις καταγράφονται συστηματικά σε χωριστό αρχείο για κάθε ζώο.

1.3.3.4.2 *Βάρος σώματος*

Όπως αναφέρεται στην παράγραφο 1.3.3.1, το βάρος κάθε ζώου πρέπει να μετράται κατά την έναρξη της δοκιμής και κατά τον προγραμματισμένο χρόνο θανάτωσης των ζώων.

1.3.4 **Υπολογισμός των αποτελεσμάτων**

Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως δείκτης διέγερσης (SI). Στην περίπτωση της ομαδικής προσέγγισης, ο SI προκύπτει με διαίρεση της κοινής ενσωμάτωσης ραδιενεργού ισοτόπου σε κάθε ομάδα αγωγής δια της ενσωμάτωσης στην κοινή ομάδα μάρτυρα που έχει λάβει μόνο το φορέα το αποτέλεσμα της πράξης αυτής είναι η μέση τιμή SI. Στην περίπτωση της ατομικής προσέγγισης, ο SI προκύπτει με διαίρεση της μέσης τιμής DPM/ζώο κάθε ομάδας αγωγής, όπως επίσης και της ομάδας θετικών μαρτύρων, δια της μέσης τιμής DPM/ζώο της ομάδας μαρτύρων που έχει λάβει μόνο το φορέα. Ο μέσος SI για τους μάρτυρες που έχουν λάβει μόνο το φορέα ισούται τότε με 1.

Η εφαρμογή της ατομικής προσέγγισης για τον υπολογισμό του SI επιτρέπει τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων. Κατά την επιλογή της ενδεδειγμένης μεθόδου στατιστικής ανάλυσης, ο ερευνητής θα πρέπει να λαμβάνει υπόψη τις πιθανές ανισότητες διακυμάνσεων και άλλα συναφή προβλήματα, τα οποία ενδέχεται να επιβάλλουν μετασχηματισμό ή μη παραμετρική στατιστική ανάλυση των δεδομένων. Ικανοποιητικός τρόπος ερμηνείας των δεδομένων είναι η αξιολόγηση όλων των επιμέρους δεδομένων για τα ζώα που έλαβαν την ελεγχόμενη ουσία και τους μάρτυρες που έλαβαν μόνο το φορέα, και ο σχεδιασμός της καμπύλης δόσης-απόκρισης που διέρχεται από τα περισσότερα σημεία, συνυπολογίζοντας τα όρια εμπιστοσύνης (8)(12)(13). Ωστόσο, ο ερευνητής θα πρέπει να είναι εξαιρετικά προσεκτικός απέναντι στο ενδεχόμενο αποκρίσεων εκτός καμπύλης σε ορισμένα ζώα μιας ομάδας, οι οποίες μπορεί να επιβάλλουν τη χρήση εναλλακτικού μέτρου της απόκρισης (π.χ. της διαμέσου αντί του αριθμητικού μέσου) ή την απόρριψη των εκτός καμπύλης τιμών.

Η απόφαση για το χαρακτηρισμό μιας απόκρισης ως θετικής προϋποθέτει συντελεστή διέγερσης ≥3 και συνεκτίμηση της σχέσης δόσης-απόκρισης, καθώς και, κατά περίπτωση, της στατιστικής σημασίας (3)(6)(8)(12)(14).

Εάν είναι αναγκαίο να διασαφηνιστούν τα αποτελέσματα, τότε θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι διάφορες ιδιότητες της ελεγχόμενης ουσίας, μεταξύ των οποίων το κατά πόσον έχει δομική σχέση με γνωστές ευαισθητοποιητικές ουσίες, κατά πόσον προκαλεί υπέρμετρο ερεθισμό του δέρματος και τι είδους απόκριση διαπιστώθηκε σε συνάρτηση με τις δόσεις. Αυτά και άλλα κριτήρια αναλύονται στη δημοσίευση (7).

2 ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Τα δεδομένα θα πρέπει να συνοψίζονται σε πίνακα, όπου θα εμφαίνονται οι μέσες και οι επιμέρους τιμές DPM και SI για κάθε δοσολογική ομάδα (συμπεριλαμβανομένης της ομάδας μάρτυρα που έλαβε μόνο το φορέα).

3 ΈΚΘΕΣΗ

3.1 ΕΚΘΕΣΗ ΔΟΚΙΜΗΣ

Η έκθεση δοκιμής θα πρέπει να περιλαμβάνει τα ακόλουθα στοιχεία:

Ελεγχόμενη ουσία:

— στοιχεία ταυτότητας (π.χ. αριθ. CAS, εφόσον υπάρχει, πηγή, καθαρότητα, γνωστές ξένες προσμίξεις, αριθμός παρτίδας)·
— φυσική κατάσταση και φυσικοχημικές ιδιότητες (π.χ. πτητικότητα, σταθερότητα, διαλυτότητα)·
— προκειμένου για μίγματα, σύσταση και εκατοστιαία αναλογία των συστατικών.

Φορέας:

— στοιχεία ταυτότητας [καθαρότητα, συγκέντρωση (κατά περίπτωση), όγκος που χρησιμοποιήθηκε]·
— αιτιολόγηση της επιλογής του φορέα.

Πειραματόζωα δοκιμής:

— φυλή ποντικών που χρησιμοποιήθηκε·
— μικροβιολογική κατάσταση των ζώων, εφόσον είναι γνωστή·
— προέλευση των ζώων, συνθήκες στέγασης, σιτηρέσιο κλπ.
— αριθμός, ηλικία και φύλο των ζώων.

Συνθήκες δοκιμής:

— λεπτομέρειες για την παρασκευή και εφαρμογή της ελεγχόμενης ουσίας·
— αιτιολόγηση της επιλογής των δόσεων, συμπεριλαμβανομένων των αποτελεσμάτων μελετών εύρεσης πεδίου τιμών, εφόσον έχουν διεξαχθεί, συγκεντρώσεις φορέα και ελεγχόμενης ουσίας που χρησιμοποιήθηκαν και συνολική ποσότητα ουσίας που χορηγήθηκε·
— λεπτομέρειες για την ποιότητα της τροφής και του νερού (μεταξύ άλλων, τύπος/προέλευση του σιτηρεσίου, προέλευση του νερού).

Έλεγχος αξιοπιστίας:

— περίληψη των αποτελεσμάτων του πιο πρόσφατου ελέγχου αξιοπιστίας, συμπεριλαμβανομένων πληροφοριών σχετικά με την ουσία, τη συγκέντρωση και το φορέα που χρησιμοποιήθηκαν·
— ταυτόχρονα δεδομένα ή/και ιστορικό δεδομένων του εργαστηρίου δοκιμών σχετικά με θετικούς και αρνητικούς μάρτυρες.

Αποτελέσματα:

— βάρος κάθε ζώου κατά την έναρξη της χορήγησης των δόσεων, καθώς και κατά τον προγραμματισμένο χρόνο θανάτωσης·

— πίνακα με τις μέσες τιμές (ομαδική προσέγγιση) ή τις επιμέρους τιμές (ατομική προσέγγιση) DPM όπως επίσης και τις κλίμακες τιμών των δύο προσεγγίσεων και με τους δείκτες διέγερσης για κάθε δοσολογική ομάδα (συμπεριλαμβανομένης της ομάδας μάρτυρα που έλαβε μόνο το φορέα)·
— στατιστική ανάλυση, κατά περίπτωση·
— για κάθε ζώο, χρόνος εκδήλωσης και εξέλιξη των συμπτωμάτων τοξικότητας, συμπεριλαμβανομένου τυχόν ερεθισμού του δέρματος στο σημείο χορήγησης.

Συζήτηση των αποτελεσμάτων:

— σύντομος σχολιασμός των αποτελεσμάτων, της ανάλυσης της σχέσης δόσης-απόκρισης και, κατά περίπτωση, των στατιστικών αναλύσεων, με γνωμάτευση για το χαρακτηρισμό ή μη της ελεγχόμενης ουσίας ως ευαισθητοποιητικής του δέρματος.

4 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1 Kimber, I. and Basketter, D.A. (1992). The murine local lymph node assay; collaborative studies and new directions: A commentary. Food and Chemical Toxicology 30, 165-169.

2 Kimber, I, Derman, R.J., Scholes E.W, and Basketter, D.A. (1994). The local lymph node assay: developments and applications. Toxicology, 93, 13-31.

3 Kimber, I., Hilton, J., Dearman, R.J., Gerberick, G.F., Ryan, C.A., Basketter, D.A., Lea, L., House, R.V., Ladies, G.S., Loveless, S.E., Hastings, K.L. (1998). Assessment of the skin sensitisation potential of topical medicaments using the local lymph node assay: An interlaboratory exercise. Journal of Toxicology and Environmental Health, 53, 563-79.

4 Μέθοδος δοκιμών Β.6.

5 Chamberlain, M. and Basketter, D.A. (1996). The local lymph node assay: status of validation. Food and Chemical Toxicology, 34, 999-1002.

6 Basketter, D.A., Gerberick, G.F., Kimber, I. and Loveless, S.E (1996). The local lymph node assay- A viable alternative to currently accepted skin sensitisation tests. Food and Chemical Toxicology, 34, 985-997.

7. Basketter, D.A., Gerberick, G.F. and Kimber, I. (1998). Strategies for identifying false positive responses in predictive sensitisation tests. Food and Chemical Toxicology. 36, 327-33.

8 Van Och, F.M.M, Slob, W., De Jong, W.H., Vandebriel, R.J., Van Loveren, H. (2000). A quantitative method for assessing the sensitising potency of low molecular weight chemicals using a local lymph node assay: employement of a regression method that includes determination of uncertainty margins. Toxicology, 146, 49-59.

9 Dearman, R.J., Hilton, J., Evans, P., Harvey, P., Basketter, D.A. and Kimber, I. (1998). Temporal stability of local lymph node assay responses to hexyl cinnamic aldehyde. Journal of Applied Toxicology, 18, 281-4.

10 National Institute of Environmental Health Sciences (1999). The Murine Local Lymph Node Assay: A Test Method for Assessing the Allergic Contact Dermatitis Potential of Chemicals/Compounds: The Results of an Independent Peer Review Evaluation Coordinated by the Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM) and the National Toxicology Program Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods (NICETAM). NIH Publication No: 99-4494, Research Triangle Park, N.C. (http://iccvam.niehs.nih.gov).

11 Μέθοδος δοκιμών Β.4.

12 Basketter, D.A., Selbie, E., Scholes, E.W. Lees, D. Kimber, I. and Botham, P.A. (1993) Results with OECD recommended positive control sensitisers in the maximisation, Buehler and local lymph node assays. Food and Chemical Toxicology, 31, 63-67.

13 Basketter D.A., Lea L.J., Dickens A., Briggs D., Pate I., Dearman R.J., Kimber I. (1999). A comparison of statistical approaches to the derivation of EC_3 values from local lymph node assay dose responses. J. Appl. Toxicology, 19, 261-266.

14 Basketter DA, Blaikie L, Derman RJ, Kimber I, Ryan CA, Gerberick GF, Harvey P, Evans P, White IR and Rycroft RTG (2000). Use of local lymph node assay for the estimation of relative contact allergenic potency. Contact Dermatitis 42 ,344-48.

B.43. ΜΕΛΕΤΗ ΝΕΥΡΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΤΡΩΚΤΙΚΑ

1. Η ΜΕΘΟΔΟΣ

Η παρούσα μέθοδος δοκιμών είναι ισοδύναμη με την κατευθυντήρια γραμμή δοκιμών TG 424 (1997) του ΟΟΣΑ.

Η μέθοδος έχει μελετηθεί για να επιτρέπει τη συγκέντρωση των αναγκαίων στοιχείων για την επιβεβαίωση ή τον περαιτέρω χαρακτηρισμό των νευροτοξικών ιδιοτήτων των χημικών ουσιών σε ενήλικα ζώα. Είναι δυνατόν να συνδυαστεί με υφιστάμενες μεθόδους δοκιμών για μελέτες τοξικότητας επαναλαμβανόμενης δόσης ή να εφαρμοστεί ως αυτοτελής μελέτη. Συνιστάται η χρήση του καθοδηγητικού εγγράφου του ΟΟΣΑ για τις στρατηγικές και μεθόδους δοκιμών νευροτοξικότητας (1) ως βοηθήματος για το σχεδιασμό μελετών βασιζόμενων στην παρούσα μέθοδο δοκιμών. Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία όταν μελετώνται τροποποιήσεις των διαδικασιών παρατήρησης και δοκιμών που συνιστώνται για τη συνήθη χρήση της μεθόδου. Το εν λόγω καθοδηγητικό έγγραφο προορίζεται να διευκολύνει την επιλογή άλλων διαδικασιών για εφαρμογή σε ειδικές περιστάσεις.
Η εκτίμηση των νευροτοξικών επιδράσεων στην ανάπτυξη δεν αποτελεί αντικείμενο της παρούσας μεθόδου.

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Είναι σημαντικό να λαμβάνονται υπόψη στην εκτίμηση και αξιολόγηση των τοξικών ιδιοτήτων των χημικών ουσιών οι πιθανές νευροτοξικές επιδράσεις. Η μέθοδος δοκιμών συστηματικής τοξικότητας επαναλαμβανόμενης δόσης περιλαμβάνει ήδη παρατηρήσεις που επιτρέπουν τον αποκλεισμό ή μη της πιθανής νευροτοξικότητας. Η παρούσα μέθοδος δοκιμών μπορεί να χρησιμοποιηθεί για το σχεδιασμό μελετών με σκοπό τη συγκέντρωση περισσότερων πληροφοριών ή την επιβεβαίωση των νευροτοξικών επιδράσεων που παρατηρούνται στις μελέτες συστηματικής τοξικότητας επαναλαμβανόμενης δόσης. Ωστόσο, από ~~ορισμένα~~ από μελέτες της πιθανότητας νευροτοξικότητας για ορισμένες κατηγορίες χημικών ουσιών ενδέχεται να προκύπτει ότι αυτές αξιολογούνται καλύτερα με την παρούσα μέθοδο, χωρίς να χρειάζεται να υπάρχουν ενδείξεις νευροτοξικότητας από προηγούμενες μελέτες συστηματικής τοξικότητας επαναλαμβανόμενης δόσης. Τέτοιες μελέτες περιλαμβάνουν για παράδειγμα:

- τη παρατήρηση νευρολογικών συμπτωμάτων ή νευροπαθολογικών βλαβών σε άλλες μελέτες τοξικότητας πλην των μελετών συστηματικής τοξικότητας επαναλαμβανόμενης δόσης ή

- τη δομική σχέση ή άλλα στοιχεία που συνδέουν την ελεγχόμενη ουσία με γνωστά νευροτοξικά.

Υπάρχουν επίσης και άλλες περιπτώσεις όπου ενδείκνυται η χρήση της παρούσας μεθόδου δοκιμών· για περισσότερες λεπτομέρειες, βλ. δημοσίευση (1).

Η παρούσα μέθοδος έχει μελετηθεί κατά τρόπον ώστε να μπορεί να προσαρμόζεται σε συγκεκριμένες ανάγκες σχετικές με την επιβεβαίωση παθολογοανατομικών ευρημάτων νευροτοξικότητας και νευροτοξικών διαταραχών της συμπεριφοράς από τη χρήση ενός χημικού, καθώς και με το χαρακτηρισμό και τον ποσοτικό προσδιορισμό των νευροτοξικών αντιδράσεων.

Παλαιότερα, η νευροτοξικότητα ταυτιζόταν με τη νευροπάθεια που συνεπάγεται νευροπαθολογικές βλάβες ή νευρολογικές δυσλειτουργίες, όπως επιληπτικές κρίσεις, παράλυση ή τρόμο. Παρόλο που η νευροπάθεια αποτελεί σημαντική εκδήλωση νευροτοξικότητας, σήμερα είναι πλέον σαφές ότι υπάρχουν πολλά άλλα σημεία τοξικής επίδρασης στο νευρικό σύστημα (π.χ. απώλεια συντονισμού των κινήσεων, περιορισμό των αισθήσεων, δυσλειτουργίες της μάθησης και της μνήμης), που ενδεχομένως δεν αποκαλύπτ~~ουν~~ αποκαλύπτονται σε μελέτες νευροπάθειας ή άλλου τύπου.

Η παρούσα μέθοδος δοκιμών νευροτοξικότητας έχει μελετηθεί για να ανιχνεύει σοβαρές επιδράσεις στη συμπεριφορά και παθολογικές επιδράσεις στο νευρικό σύστημα ενηλίκων τρωκτικών. Ενώ οι επιδράσεις στη συμπεριφορά, ακόμη και αν δεν συνοδεύονται από μορφολογικές αλλαγές, μπορούν να αποκαλύψουν δυσμενή επίδραση στον οργανισμό, δεν συνδέονται όλες οι διαταραχές της συμπεριφοράς ειδικά με το νευρικό σύστημα. Κατά συνέπεια, οι παρατηρούμενες αλλαγές θα πρέπει να αξιολογούνται σε συνάρτηση με ιστοπαθολογικά, αιματολογικά ή βιοχημικά δεδομένα, καθώς και με δεδομένα για άλλους τύπους συστηματικής τοξικότητας. Οι εξετάσεις που απαιτεί η παρούσα μέθοδος για το χαρακτηρισμό και τον ποσοτικό προσδιορισμό των νευροτοξικών αντιδράσεων περιλαμβάνουν ειδικές ιστοπαθολογικές εξετάσεις και διαδικασίες μελέτης της συμπεριφοράς, που μπορούν να υποστηριχθούν με ηλεκτροφυσιολογικές ή/και βιοχημικές εξετάσεις (1)(2)(3)(4).

Τα νευροτοξικά μπορούν να δράσουν στο νευρικό σύστημα σε αρκετούς στόχους και με ποικίλους μηχανισμούς. Δεδομένου ότι δεν υπάρχει μία και μόνη σειρά δοκιμών ικανή να επιτρέψει την πλήρη εκτίμηση των νευροτοξικών ιδιοτήτων όλων των ουσιών, ενδέχεται να είναι αναγκαία η διεξαγωγή άλλων δοκιμών *in vivo* ή *in vitro* ειδικών για τον τύπο της παρατηρούμενης ή προβλεπόμενης νευροτοξικότητας.

Η παρούσα μέθοδος δοκιμών μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί, σύμφωνα με τις οδηγίες που παρέχονται στο καθοδηγητικό έγγραφο του ΟΟΣΑ για Στρατηγικές και μεθόδους δοκιμών Νευροτοξικότητας (1), για το σχεδιασμό μελετών με τις οποίες επιδιώκεται ο περαιτέρω χαρακτηρισμός ή η αύξηση της ευαισθησίας του ποσοτικού προσδιορισμού της σχέσης δόσης-απόκρισης ή η ακριβέστερη εκτίμηση του NOAEL ή η επαλήθευση γνωστών κινδύνων ή υπονοιών για κινδύνους από τη χημική ουσία. Για παράδειγμα, είναι δυνατόν να σχεδιαστούν μελέτες για τη διαλεύκανση και την αξιολόγηση του ή των νευροτοξικών μηχανισμών ή για τη συμπλήρωση δεδομένων που έχουν προκύψει από την εφαρμογή των βασικών διαδικασιών μελέτης της συμπεριφοράς και νευροπαθολογικών παρατηρήσεων. Οι εν λόγω μελέτες δεν πρέπει να αναπαράγουν δεδομένα που συγκεντρώνονται με την χρήση των τυπικών διαδικασιών τις οποίες συνιστά η μέθοδος, εάν τα δεδομένα αυτά είναι ήδη διαθέσιμα και δεν θεωρούνται απαραίτητα για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της μελέτης.

Η παρούσα μελέτη νευροτοξικότητας, χρησιμοποιούμενη μόνη ή σε συνδυασμό με άλλες, παρέχει στοιχεία με τα οποία είναι δυνατόν:

- να διαπιστωθεί αν η ελεγχόμενη χημική ουσία προκαλεί μόνιμες ή ανατάξιμες βλάβες στο νευρικό σύστημα·
- να συμβάλλουν ~~ο~~ στο χαρακτηρισμό~~ς~~ των βλαβών του νευρικού συστήματος που συνδέονται με την έκθεση στη χημική ουσία, καθώς και στη κατανόηση των υπεύθυνων μηχανισμών·
- να προσδιοριστούν οι σχέσεις δόσης-απόκρισης και χρόνου-απόκρισης, προκειμένου να υπολογιστεί το NOAEL (το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον καθορισμό κριτηρίων ασφάλειας για τις χημικές ουσίες).

Στην παρούσα μέθοδο δοκιμών η ελεγχόμενη ουσία χορηγείται από το στόμα. Ενδέχεται άλλες οδοί χορήγησης (π.χ. από το δέρμα ή με την εισπνοή) να είναι καταλληλότερες και απαιτούν τροποποίηση των συνιστώμενων διαδικασιών. Τα κριτήρια επιλογής της οδού χορήγησης εξαρτώνται από τον τύπο της έκθεσης του ανθρώπου και τα διαθέσιμα τοξικολογικά στοιχεία ή στοιχεία κινητικής.

1.2 ΟΡΙΣΜΟΙ

Δυσμενής επίδραση: κάθε απόκλιση από τη βασική γραμμή, που συνδέεται με την αγωγή και μειώνει την ικανότητα ενός οργανισμού να επιζεί, να αναπαράγεται ή να προσαρμόζεται στο περιβάλλον του.

Δόση: η χορηγούμενη ποσότητα ελεγχόμενης ουσίας· εκφράζεται σε βάρος ουσίας (g, mg) ή σε βάρος ουσίας ανά μονάδα βάρους του πειραματοζώου (π.χ. mg/kg) ή σε σταθερές συγκεντρώσεις στο σιτηρέσιο (ppm).

Δοσολογία: γενικός όρος που περικλείει τη δόση, τη συχνότητα χορήγησης και τη διάρκεια της δόσης.

Νευροτοξικότητα: δυσμενής μεταβολή της δομής ή της λειτουργίας του νευρικού συστήματος που οφείλεται στην έκθεση σε χημικούς, βιολογικούς ή φυσικούς παράγοντες.

Νευροτοξικό: κάθε χημικός, βιολογικός ή φυσικός παράγοντας που μπορεί να προκαλέσει νευροτοξικότητα.

NOAEL: από τα αρχικά του αγγλικού "no-observed-adverse effect level", που σημαίνει το υψηλότερ~~η~~ο επίπεδο δόσης στην οποία δεν παρατηρούνται δυσμενείς επιδράσεις σχετιζόμενες με την αγωγή.

1.3 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΩΝ

Μια σειρά δόσεων της ελεγχόμενης χημικής ουσίας χορηγούνται από το στόμα σε πολλές ομάδες τρωκτικών εργαστηριακής χρήσης. Συνήθως απαιτούνται επαναλαμβανόμενες δόσεις, ενώ η δοσολογία μπορεί να είναι κάθε 28 ημερών, σε χρονικά διαστήματα μικρότερα του ενός έτους (90 ημέρες) ή σε χρονικά διαστήματα του ενός έτους (ή περισσότερο). Οι διαδικασίες που καθορίζονται στην παρούσα μέθοδο δοκιμών μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για μελέτες οξείας τοξικότητας. Τα ζώα υποβάλλονται σε εξετάσεις που επιτρέπουν τη διαπίστωση ή το χαρακτηρισμό διαταραχών της συμπεριφοράς ή/και νευρολογικών. Στη διάρκεια κάθε περιόδου παρατήρησης αξιολογείται μια σειρά επιδράσεων στη συμπεριφορά που θα μπορούσαν να οφείλονται σε νευροτοξικά. Στο τέλος της δοκιμής, μια υποομάδα ζώων από κάθε φύλο και κάθε ομάδα υποβάλλονται σε έγχυση *in situ* και ακολουθεί παρασκευή τομών εγκεφάλου, νωτιαίου μυελού και περιφερειακών νεύρων για εξέταση.

Όταν η μελέτη διεξάγεται αυτοτελώς για τον αποκλεισμό ή μη της νευροτοξικότητας ή για το χαρακτηρισμό νευροτοξικών επιδράσεων, τα ζώα κάθε ομάδας που δεν επιλέγονται για έγχυση και επακόλουθη ιστοπαθολογική εξέταση (βλ. πίνακα 1) μπορούν να υποβληθούν σε ειδικές διαδικασίες μελέτης της συμπεριφοράς και σε νευροπαθολογικές, νευροχημικές ή ηλεκτροφυσιολογικές εξετάσεις, οι οποίες συμπληρώνουν τα ευρήματα από τις τυπικές εξετάσεις που απαιτεί η παρούσα μέθοδος (1). Οι συμπληρωματικές αυτές διαδικασίες είναι ιδιαίτερα χρήσιμες στις περιπτώσεις όπου εμπειρικές παρατηρήσεις ή αναμενόμενες επιδράσεις υποδεικνύουν ένα συγκεκριμένο τύπο ή στόχο νευροτοξικότητας μιας χημικής ουσίας. Μια άλλη δυνατότητα είναι η χρήση των υπόλοιπων ζώων για τις εκτιμήσεις που απαιτούν οι μέθοδοι δοκιμών τοξικότητας επαναλαμβανόμενης δόσης σε τρωκτικά.

Όταν η παρούσα μέθοδος δοκιμών συνδυάζεται με άλλες μεθόδους, απαιτείται ικανός αριθμός ζώων για να ικανοποιούνται οι απαιτήσεις για τις παρατηρήσεις και των δύο μεθόδων.

1.4 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΩΝ

1.4.1 **Επιλογή είδους ζώων**

Το προτιμώμενο είδος τρωκτικού είναι ο επίμυς, αλλά μπορούν να χρησιμοποιηθούν και άλλα είδη τρωκτικών, με αιτιολόγηση της επιλογής τους. Πρέπει να χρησιμοποιούνται υγιή νεαρά ενήλικα ζώα που ανήκουν σε φυλές κοινής εργαστηριακής χρήσης. Τα θηλυκά ζώα πρέπει να μην έχουν ποτέ γεννήσει ούτε να εγκυμονούν. Η χορήγηση των δόσεων θα πρέπει κατά κανόνα να αρχίζει το ταχύτερο δυνατόν μετά τον απογαλακτισμό, κατά προτίμηση όταν τα ζώα είναι ηλικίας το πολύ έξι εβδομάδων και, πάντως, πριν συμπληρώσουν τις εννέα εβδομάδες. Όταν ωστόσο η μελέτη αυτή συνδυάζεται με άλλες, μπορεί να χρειάζεται προσαρμογή της απαίτησης για την ηλικία. Κατά την έναρξη της μελέτης, η διακύμανση του βάρους των χρησιμοποιούμενων ζώων δεν πρέπει να υπερβαίνει το ± 20% του μέσου βάρους κάθε φύλου. Στις περιπτώσεις όπου διεξάγεται μια βραχεία μελέτη επαναλαμβανόμενης δόσης ως προκαταρτική μακροχρόνιας μελέτης, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ζώα της ίδιας φυλής και προέλευσης, στις δύο μελέτες.

1.4.2 **Συνθήκες στέγασης και διατροφής**

Η θερμοκρασία του θαλάμου πειραματοζώων πρέπει να είναι 22ºC (±3ºC). Αν και η σχετική υγρασία πρέπει να είναι τουλάχιστον 30% και, κατά προτίμηση, να μην υπερβαίνει το 70%, εκτός από τις περιόδους καθαρισμού του θαλάμου, εν τούτοις ο στόχος θα πρέπει να είναι μια τιμή 50-60%. Ο φωτισμός πρέπει να είναι τεχνητός, με εναλλαγή φωτός-σκότους ανά 12ωρο. Οι δυνατοί, διακεκομμένοι θόρυβοι θα πρέπει να περιορίζονται στο ελάχιστο. Για τη διατροφή των ζώων μπορούν να χρησιμοποιούνται τα συνήθη εργαστηριακά σιτηρέσια, με απεριόριστη παροχή πόσιμου νερού. Όταν η ελεγχόμενη ουσία χορηγείται με την τροφή, στη παρούσα μέθοδο, η ανάγκη παρασκευής κατάλληλου μίγματος είναι δυνατόν να επηρεάσει την επιλογή του σιτηρεσίου. Τα ζώα μπορούν να στεγάζονται χωριστά ή σε μικρές ομάδες του ίδιου φύλου.

1.4.3 **Προετοιμασία των ζώων**

Υγιή νεαρά ζώα κατανέμονται τυχαία στις ομάδες αγωγής και ομάδες μάρτυρες. Η διάταξη των κλουβιών θα πρέπει να είναι τέτοια ώστε να ελαχιστοποιεί την πιθανότητα επιδράσεων οφειλόμενων στη θέση των κλουβιών. Τα ζώα σημαίνονται με τρόπο που επιτρέπει την αναγνώριση του καθενός και παραμένουν στα κλουβιά τους τουλάχιστον για πέντε ημέρες πριν από την έναρξη της μελέτης, ώστε να εγκλιματιστούν στις εργαστηριακές συνθήκες.

1.4.4 **Οδός χορήγησης και παρασκευή των δόσεων**

Η παρούσα μέθοδος δοκιμών αφορά ειδικά τη χορήγηση της ελεγχόμενης ουσίας από το στόμα. Η ουσία μπορεί να χορηγηθεί με καθετήρα σίτισης, με την τροφή, με το νερό ή σε κάψουλες. Ενδέχεται άλλες οδοί χορήγησης (π.χ. από το δέρμα ή με την εισπνοή) να είναι καταλληλότερες και απαιτούν τροποποίηση των συνιστώμενων διαδικασιών. Τα κριτήρια επιλογής της οδού χορήγησης εξαρτώνται από τον τύπο της έκθεσης του ανθρώπου και τα διαθέσιμα τοξικολογικά στοιχεία ή στοιχεία κινητικής. Θα πρέπει να αναφέρονται οι λόγοι της επιλογής άλλης οδού χορήγησης, καθώς και οι συνακόλουθες τροποποιήσεις των διαδικασιών της παρούσας μεθόδου.

Εάν είναι απαραίτητο, μπορεί να παρασκευαστεί διάλυμα ή εναιώρημα της ελεγχόμενης ουσίας σε κατάλληλο φορέα. Συνιστάται να χρησιμοποιούνται, πρωτίστως, υδατικά διαλύματα/εναιωρήματα, με δεύτερα κατά σειρά προτίμησης τα διαλύματα/εναιωρήματα σε έλαιο (π.χ. αραβοσιτέλαιο) και τελευταία τα διαλύματα/εναιωρήματα σε άλλους φορείς. Οι τοξικολογικές ιδιότητες του φορέα πρέπει να είναι γνωστές. Επιπλέον, πρέπει να λαμβάνονται υπόψη τα ακόλουθα χαρακτηριστικά του: επίδραση στην απορρόφηση, την κατανομή, το μεταβολισμό ή την κατακράτηση της ελεγχόμενης ουσίας, η οποία μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα μεταβολή των τοξικολογικών ιδιοτήτων της, και επίδραση στην κατανάλωση τροφής/νερού από τα ζώα ή στη θρέψη τους.

1.5 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1.5.1 **Αριθμός και φύλο των ζώων**

Όταν η μελέτη διεξάγεται αυτοτελώς, κάθε ομάδα αγωγής και ομάδα μάρτυρας πρέπει να αποτελείται τουλάχιστον από 20 ζώα (10 θηλυκά και 10 αρσενικά) για την αξιολόγηση των λεπτομερών κλινικών και λειτουργικών παρατηρήσεων. Στο τέλος της μελέτης, επιλέγονται τουλάχιστον πέντε αρσενικά και πέντε θηλυκά ζώα μεταξύ των παραπάνω 10 αρσενικών και 10 θηλυκών, υποβάλλονται σε έγχυση *in situ* και χρησιμοποιούνται για λεπτομερή νευροϊστοπαθολογική εξέταση. Εάν ο αριθμός των ζώων μιας δεδομένης ομάδας αγωγής που εξετάζονται για συμπτώματα νευροτοξικότητας είναι περιορισμένος, θα πρέπει να συμπεριλαμβάνονται στα επιλεγόμενα για έγχυση. Όταν η μελέτη συνδυάζεται με μελέτη τοξικότητας επαναλαμβανόμενης δόσης, απαιτείται ικανός αριθμός ζώων για να καλύπτονται οι απαιτήσεις και των δύο μελετών. Οι ελάχιστοι αριθμοί ζώων ανά ομάδα για διάφορους συνδυασμούς μελετών παρατίθενται στον πίνακα 1. Εάν έχουν προγραμματιστεί ενδιάμεσες θανατώσεις ή ομάδες ανάρρωσης για την παρατήρηση της εμφάνισης ανατάξιμων, μόνιμων ή όψιμων επιδράσεων μετά την αγωγή ή εάν μελετάται το ενδεχόμενο συμπληρωματικών παρατηρήσεων, ο αριθμός των ζώων θα πρέπει να αυξάνεται, ώστε να επαρκεί για την παρατήρηση και την ιστοπαθολογία.

1.5.2 **Ομάδες αγωγής και ομάδα μάρτυρας**

Κατά κανόνα χρησιμοποιούνται τουλάχιστον τρεις ομάδες αγωγής και μία ομάδα μάρτυρας. Εάν όμως από την αξιολόγηση άλλων δεδομένων, δεν αναμένονται επιδράσεις με μια επαναλαμβανόμενη δόση 1000 mg/kg βάρους σώματος/ημέρα, είναι δυνατόν να διεξαχθεί οριακή δοκιμή. Εάν δεν υπάρχουν κατάλληλα στοιχεία, είναι δυνατόν να διεξαχθεί μελέτη εύρεσης πεδίου τιμών για να βοηθήσει στον καθορισμό των δόσεων που θα χορηγηθούν. Ο τρόπος χρήσης των ζώων της ομάδας μάρτυρα, εκτός του ότι αυτά δεν υποβάλλονται σε αγωγή με την ελεγχόμενη ουσία, πρέπει κατά τα άλλα να είναι πανομοιότυπος με των ζώων των ομάδων αγωγής. Σε περίπτωση χρήσης φορέα για τη χορήγηση της ελεγχόμενης ουσίας, αυτός θα πρέπει να χορηγείται στην ομάδα μάρτυρα στο μεγαλύτερο χρησιμοποιούμενο όγκο.

1.5.3 **Έλεγχος αξιοπιστίας**

Το εργαστήριο που αναλαμβάνει τη μελέτη θα πρέπει να αποδεικνύει την ικανότητά του να τη διεξάγει, καθώς και την ευαισθησία των διαδικασιών που εφαρμόζει. Τα σχετικά δεδομένα θα πρέπει να καταδεικνύουν την ικανότητα ανίχνευσης και ποσοτικού προσδιορισμού, κατά περίπτωση, των μεταβολών των διαφόρων τελικών σημείων που συνιστά η μέθοδος να παρατηρούνται, όπως η αυτόνομη λειτουργία, η αισθητικότητα, η ισχύς των άκρων και η κινητικότητα. Πληροφορίες για χημικές ουσίες που προκαλούν νευροτοξικές αντιδράσεις διαφόρων τύπων και θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως θετικοί μάρτυρες παρέχονται στις δημοσιεύσεις (2) έως (9). Εφόσον τα βασικά σημεία των πειραματικών διαδικασιών παραμένουν αμετάβλητα, μπορεί να χρησιμοποιείται το ιστορικό δεδομένων, το οποίο συνιστάται να ανανεώνεται κατά διαστήματα. Όταν το εργαστήριο τροποποιεί βασικά σημεία του τρόπου εργασίας ή των διαδικασιών της δοκιμής, θα πρέπει να να παρουσιάσει νέα δεδομένα που αποδεικνύουν τη διατήρηση της ευαισθησίας των διαδικασιών.

1.5.4 **Επιλογή δόσεων**

Οι δόσεις θα πρέπει να επιλέγονται λαμβάνοντας υπόψη τα δεδομένα που τυχόν έχουν προηγουμένως παρατηρηθεί, που αφορούν την τοξικότητα ή την κινητική της ελεγχόμενης χημικής ένωσης ή άλλων ομοειδών ουσιών. Το υψηλότερο επίπεδο δόσης θα πρέπει να επιλέγεται με σκοπό την πρόκληση νευροτοξικών ή σαφών συστηματικών επιδράσεων. Στη συνέχεια, επιλέγεται μια φθίνουσα σειρά επιπέδων δόσης με σκοπό τον προσδιορισμό της ενδεχόμενης σχέσης δόσης-απόκρισης και του NOAEL στη χαμηλότερη δόση. Οι δόσεις θα πρέπει κατ' αρχήν να καθορίζονται κατά τρόπον ώστε να επιτρέπουν τη διάκριση μεταξύ πρωτογενών τοξικών επιδράσεων στο νευρικό σύστημα και συστηματικής τοξικότητας. Δύο έως τρία επίπεδα δόσης είναι συχνά η καλύτερη λύση, ενώ είναι προτιμότερο να προστίθεται μια τέταρτη ομάδα αγωγής αντί να διαφέρουν τα επίπεδα πολύ μεταξύ τους (π.χ. διαφορά μεγαλύτερη από 1 προς 10). Εάν υπάρχει βάσιμη εκτίμηση της έκθεσης του ανθρώπου, θα πρέπει να λαμβάνεται και αυτή υπόψη.

1.5.5 **Οριακή δοκιμή**

Εάν σε μελέτη με δόση τουλάχιστον 1000 mg/kg βάρους σώματος/ημέρα, με εφαρμογή των διαδικασιών που περιγράφονται στα προηγούμενα, δεν παρατηρηθούν εμφανείς νευροτοξικές επιδράσεις και εφόσον δεν αναμένεται τοξικότητα με βάση στοιχεία για ουσίες ανάλογης χημικής δομής, τότε μπορεί να κριθεί περιττή η διεξαγωγή πλήρους μελέτης με τρεις διαφορετικές δόσεις. Η προβλεπόμενη έκθεση του ανθρώπου ενδέχεται να δείχνει ότι είναι αναγκαίο να χρησιμοποιηθεί στην οριακή δοκιμή υψηλότερη δόση από το στόμα. Σε περίπτωση χορήγησης από άλλη οδό, όπως εισπνοή ή εφαρμογή στο δέρμα, το μέγιστα εφικτό επίπεδο έκθεσης μπορεί να εξαρτάται από τις φυσικές και χημικές ιδιότητες της ελεγχόμενης ουσίας. Για τη χρήση της μεθόδου σε μελέτη οξείας τοξικότητας, η δόση στην οριακή δοκιμή θα πρέπει να είναι τουλάχιστον 2000 mg/kg.

1.5.6 **Χορήγηση των δόσεων**

Η ελεγχόμενη ουσία χορηγείται στα ζώα κάθε ημέρα της εβδομάδας για περίοδο τουλάχιστον 28 ημερών. Η χρήση πενθήμερου δοσολογικού σχήματος ή μικρότερης περιόδου έκθεσης πρέπει να αιτιολογείται. Σε περίπτωση χορήγησης της ελεγχόμενης ουσίας με σωλήνα, αυτή χορηγείται εφάπαξ με τη βοήθεια ρινογαστρικού καθετήρα σίτισης ή κατάλληλου σωλήνα διασωλήνωσης. Ο μέγιστος όγκος υγρού που μπορεί να χορηγηθεί εφάπαξ εξαρτάται από το μέγεθος του πειραματοζώου. Ο όγκος δεν πρέπει κατά κανόνα να υπερβαίνει το 1ml/100g βάρους σώματος, αλλά στην περίπτωση των υδατικών διαλυμάτων μπορεί να μελετηθεί το ενδεχόμενο χορήγησης 2 ml/100g βάρους σώματος. Με εξαίρεση τις ερεθιστικές ή διαβρωτικές ουσίες, των οποίων οι επιδράσεις συνήθως ενισχύονται όταν αυξάνεται η συγκέντρωση, η διακύμανση του όγκου των δόσεων θα πρέπει να ελαχιστοποιείται με αλλαγή της συγκέντρωσης, ώστε ο όγκος να παραμένει σταθερός σε όλα τα επίπεδα δόσης.

Σε περίπτωση χορήγησης της ουσίας με την τροφή ή το νερό, είναι σημαντικό να διασφαλίζεται ότι οι χρησιμοποιούμενες ποσότητες ελεγχόμενης ουσίας δεν παρεμποδίζουν τη φυσιολογική θρέψη των ζώων ή το μεταβολισμό του νερού. Όταν η ουσία χορηγείται με την τροφή, είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί είτε μια σταθερή συγκέντρωση στο σιτηρέσιο (ppm) είτε ένα σταθερό επίπεδο δόσης ως προς το βάρος του ζώου. Η επιλεγόμενη εναλλακτική δυνατότητα πρέπει να προσδιορίζεται. Στην περίπτωση των ουσιών που χορηγούνται με σωλήνα σίτισης, οι δόσεις θα πρέπει να χορηγούνται την ίδια περίπου ώρα κάθε ημέρα και να αναπροσαρμόζονται ανάλογα με το βάρος του ζώου, ώστε το επίπεδό τους να διατηρείται σταθερό. Στις περιπτώσεις όπου διεξάγεται μια βραχεία μελέτη επαναλαμβανόμενης δόσης ως προκαταρτική μακροχρόνιας μελέτης, θα πρέπει να χρησιμοποιείται παρόμοιο σιτηρέσιο και στις δύο. Στην περίπτωση των μελετών οξείας τοξικότητας, εάν η εφάπαξ χορήγηση δεν είναι εφικτή, η δόση μπορεί να χορηγηθεί τμηματικά εντός περιόδου που δεν υπερβαίνει τις 24 ώρες.

1.6 ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ

1.6.1 **Συχνότητα παρατήρησης και εξετάσεων**

Στις μελέτες επαναλαμβανόμενης δόσης η περίοδος παρατήρησης θα πρέπει να καλύπτει την περίοδο δοσολογίας. Στις μελέτες οξείας τοξικότητας θα πρέπει να εφαρμόζεται περίοδος παρατήρησης 14 ημερών μετά την αγωγή. Όταν χρησιμοποιούνται δορυφορικές ομάδες ζώων που δεν εκτίθενται στην ουσία για ένα ορισμένο διάστημα μετά την αγωγή, οι παρατηρήσεις θα πρέπει να καλύπτουν και αυτό το διάστημα.

Η συχνότητα παρατήρησης θα πρέπει να είναι επαρκής, ώστε να μεγιστοποιείται η πιθανότητα ανίχνευσης διαταραχών της συμπεριφοράς ή/και νευρολογικών. Τα ζώα θα πρέπει κατά προτίμηση να εξετάζονται την ίδια ώρα κάθε ημέρα, λαμβάνοντας υπόψη το χρόνο κορύφωσης των αναμενόμενων επιδράσεων μετά τη χορήγηση της δόσης. Η συχνότητα κλινικής παρατήρησης και λειτουργικής εξέτασης συνοψίζεται στον πίνακα 2. Εάν δεδομένα κινητικής ή άλλα, προερχόμενα από προηγούμενη μελέτη, επιβάλλουν την επιλογή διαφορετικών χρόνων για τις παρατηρήσεις, τις εξετάσεις και τις διαδικασίες μετά την παρατήρηση, μπορεί να καθοριστεί διαφορετικό χρονοδιάγραμμα, ώστε να συγκεντρωθούν όσο το δυνατόν περισσότερα στοιχεία. Οι αλλαγές στο χρονοδιάγραμμα θα πρέπει να αιτιολογούνται.

1.6.1.1 *Παρατήρηση της γενικής κατάστασης της υγείας και της θνησιμότητας/νοσηρότητας*

Όλα τα ζώα θα πρέπει να εξετάζονται με προσοχή τουλάχιστον μία φορά ημερησίως, όσον αφορά τη γενική κατάσταση της υγείας τους, και τουλάχιστον δύο φορές ημερησίως, όσον αφορά τη νοσηρότητα και τη θνησιμότητα.

1.6.1.2 *Λεπτομερής κλινική εξέταση*

Όλα τα ζώα που επιλέγονται για λεπτομερή κλινική εξέταση (βλ. πίνακα 1) θα πρέπει να εξετάζονται μία φορά πριν από την πρώτη έκθεση (ώστε να είναι δυνατή η σύγκριση των υποκειμένων) και κατόπιν σε διάφορα διαστήματα ανάλογα με τη διάρκεια της μελέτης (βλ. πίνακα 2). Η λεπτομερής κλινική εξέταση των δορυφορικών ομάδων ανάρρωσης θα πρέπει να διενεργείται στο τέλος της περιόδου ανάρρωσης. Η λεπτομερής κλινική εξέταση θα πρέπει να διενεργείται έξω από το κλουβί, σε τυποποιημένο χώρο. Οι κλινικές παρατηρήσεις θα πρέπει να καταγράφονται με προσοχή, με τη βοήθεια ενός συστήματος βαθμολόγησης, που περιλαμβάνει κριτήρια ή βαθμολογική κλίμακα για κάθε ποσοτική εκτίμηση. Τα χρησιμοποιούμενα κριτήρια ή κλίμακες πρέπει να έχουν οριστεί επακριβώς από το εργαστήριο δοκιμών. Θα πρέπει να καταβάλλεται προσπάθεια, ώστε οι μεταβολές των συνθηκών δοκιμής (πλην εκείνων που συνδέονται συστηματικά με την αγωγή) να περιορίζονται στο ελάχιστο και η εξέταση να εκτελείται από έμπειρους εξεταστές, που δεν γνωρίζουν την αγωγή στην οποία έχουν υποβληθεί τα ζώα.

Συνιστάται η εξέταση να είναι δομημένη, με τρόπο ώστε καλά καθορισμένα κριτήρια (μεταξύ των οποίων περιλαμβάνεται ο καθορισμός του εύρους "φυσιολογικών τιμών"), να εφαρμόζονται συστηματικά σε κάθε ζώο και σε κάθε χρόνο παρατήρησης. Οι "φυσιολογικές τιμές" πρέπει να είναι επαρκώς τεκμηριωμένες. Καταγράφονται όλα τα παρατηρούμενα συμπτώματα και, εάν είναι εφικτό, η έντασή τους. Οι κλινικές παρατηρήσεις θα πρέπει να περιλαμβάνουν, χωρίς η απαρίθμηση να είναι περιοριστική, τις αλλαγές στο δέρμα, στο τρίχωμα, στους οφθαλμούς και στους βλεννογόνους, την εμφάνιση εκκρίσεων και την αυτόνομη λειτουργία (π.χ., δακρύρροια, ανόρθωση του τριχώματος, αλλαγή του μεγέθους της κόρης των οφθαλμών, ασυνήθης

ρυθμός αναπνοής ή/και αναπνοή από το στόμα, ανωμαλίες στην ούρηση και στις κενώσεις, αποχρωματισμός των ούρων).

Θα πρέπει επίσης να σημειώνονται οι ασυνήθεις παρατηρήσεις που αφορούν τη θέση του σώματος, την κινητικότητα (π.χ. αύξηση ή μείωση της διάθεσης εξερεύνησης του τυποποιημένου χώρου) και το συντονισμό των κινήσεων. Θα πρέπει να καταγράφονται ακόμη οι αλλαγές στη βάδιση (π.χ. ταλάντευση, αταξία), στη στάση του σώματος (π.χ. κύρτωση της ράχης) και στην αντίδραση στη μεταχείριση, την τοποθέτηση και σε άλλα ερεθίσματα από το περιβάλλον, καθώς και η εμφάνιση μυοκλωνίας, υπερτονίας, σπασμών, τρόμου και στερεότυπων κινήσεων (π.χ. υπερβολική περιποίηση του σώματος, ασυνήθεις κινήσεις του κεφαλιού, διαγραφή συνεχών κύκλων), η περίεργη συμπεριφορά (π..χ. δήγματα ή υπερβολική λείξη, αυτοακρωτηριασμός, οπισθοδρόμηση, φώνηση) και η επιθετικότητα.

1.6.1.3 *Λειτουργικές εξετάσεις*

Όπως και στην περίπτωση της λεπτομερούς κλινικής εξέτασης, όλα τα ζώα που επιλέγονται για λειτουργικές εξετάσεις θα πρέπει να εξετάζονται μία φορά πριν από την έκθεση και, κατόπιν, τακτικά (βλ. πίνακα 1). Η συχνότητα των λειτουργικών εξετάσεων εξαρτάται και αυτή από τη διάρκεια της μελέτης (βλ. πίνακα 2). Εκτός από τις περιόδους παρατήρησης που καθορίζονται στον πίνακα 2, οι δορυφορικές ομάδες ανάρρωσης θα πρέπει επίσης να υποβάλλονται σε λειτουργικές εξετάσεις, όσο το δυνατόν πλησιέστερα στο χρόνο θανάτωσης. Οι λειτουργικές εξετάσεις θα πρέπει να περιλαμβάνουν εκτίμηση των διαφόρων τρόπων αισθητικότητας [π.χ. ~~ακοή~~ ακοής, όρασης και ιδιοδεκτικής αισθητικότητας(5)(6)(7)], εκτίμηση της ισχύος των άκρων (8) και της κινητικότητας (9). Η κινητικότητα θα πρέπει να μετράται με αυτόματη συσκευή, ικανή να ανιχνεύει τόσο τη μείωση, όσο και την αύξησή της. Εφόσον χρησιμοποιείται άλλο σύστημα μέτρησης, θα πρέπει να παρέχει ποσοτικά δεδομένα και να διαθέτει αποδεδειγμένη ευαισθησία και αξιοπιστία. Κάθε συσκευή θα πρέπει να ελέγχεται για να διασφαλίζεται η αξιοπιστία στο χρόνο και η συνέπεια μεταξύ των συσκευών. Περισσότερες λεπτομέρειες για τις διαδικασίες που μπορούν να εφαρμόζονται, παρέχονται στη σχετική βιβλιογραφία. Εάν δεν υπάρχουν δεδομένα για πιθανές νευροτοξικές επιδράσεις (π.χ. σχέση δομής-δραστικότητας, επιδημιολογικά δεδομένα, αποτελέσματα άλλων τοξικολογικών μελετών), θα πρέπει να μελετάται το ενδεχόμενο προσθήκης πιο εξειδικευμένων εξετάσεων για αισθητικότητα και κινητικότητα ή για τις λειτουργίες της μάθησης και της μνήμης με σκοπό τη λεπτομερέστερη διερεύνηση των πιθανών επιδράσεων. Περισσότερες πληροφορίες για τις εν λόγω ειδικές εξετάσεις και τη χρήση τους παρέχονται στη δημοσίευση (1).

Κατ' εξαίρεση, τα ζώα που παρουσιάζουν συμπτώματα τοξικότητας σε βαθμό ώστε αυτά να παρεμποδίζουν τις λειτουργικές εξετάσεις, μπορούν να παραλείπονται. Η απόσυρση ζώων από μια λειτουργική εξέταση θα πρέπει να αιτιολογείται.

1.6.2 **Βάρος σώματος και κατανάλωση τροφής/νερού**

Στις μελέτες διάρκειας έως 90 ημερών, θα πρέπει να ζυγίζονται όλα τα ζώα τουλάχιστον ανά εβδομάδα και να μετράται η κατανάλωση τροφής (κατανάλωση νερού, εάν η ελεγχόμενη ουσία χορηγείται μέσω αυτού) επίσης τουλάχιστον ανά εβδομάδα. Στις μακροχρόνιες μελέτες, θα πρέπει να ζυγίζονται όλα τα ζώα τουλάχιστον ανά εβδομάδα για τις πρώτες 13 εβδομάδες και, κατόπιν, τουλάχιστον ανά 4 εβδομάδες. Η κατανάλωση τροφής (κατανάλωση νερού, εάν η ελεγχόμενη ουσία χορηγείται μέσω αυτού) θα πρέπει να μετράται τουλάχιστον ανά εβδομάδα για τις πρώτες 13 εβδομάδες και, κατόπιν, ανά τρίμηνο περίπου, εκτός εάν η κατάσταση της υγείας ή οι μεταβολές του βάρους των ζώων επιβάλλουν άλλη συχνότητα.

1.6.3 **Οφθαλμολογία**

Στις μελέτες διάρκειας άνω των 28 ημερών, πρέπει να υποβάλλονται σε οφθαλμολογική εξέταση, με οφθαλμοσκόπιο ή άλλο κατάλληλο όργανο, αν όχι όλα τα ζώα, τουλάχιστον εκείνα της ομάδας υψηλής δόσης και της ομάδας μάρτυρα πριν από τη χορήγηση της ελεγχόμενης ουσίας και στο τέλος της μελέτης. Εφόσον διαπιστώνονται αλλαγές στους οφθαλμούς ή εάν το επιβάλλουν τα κλινικά συμπτώματα, θα πρέπει να εξετάζονται όλα τα ζώα. Στις μακροχρόνιες μελέτες, θα πρέπει επίσης να διενεργείται οφθαλμολογική εξέταση μετά 13 εβδομάδες. Δεν απαιτείται οφθαλμολογική εξέταση εάν υπάρχουν ήδη σχετικά δεδομένα από άλλες μελέτες με ανάλογη διάρκεια και ανάλογα επίπεδα δόσης.

1.6.4 **Αιματολογία και κλινική βιοχημεία**

Στις περιπτώσεις όπου η μελέτη νευροτοξικότητας διεξάγεται σε συνδυασμό με μελέτη συστηματικής τοξικότητας επαναλαμβανόμενης δόσης, πρέπει να διενεργούνται οι αιματολογικές και βιοχημικές εξετάσεις που καθορίζονται στη μέθοδο της συγκεκριμένης μελέτης συστηματικής τοξικότητας. Τα δείγματα θα πρέπει να συλλέγονται κατά τρόπον ώστε να ελαχιστοποιούνται οι πιθανές επιδράσεις στη συμπεριφορά του νευρικού συστήματος.

1.6.5 **Ιστοπαθολογία**

Η νευροπαθολογική εξέταση θα πρέπει να σχεδιάζεται για να συμπληρώνει και να διευρύνει τις παρατηρήσεις της φάσης *in vivo* της μελέτης. Ιστοί από τουλάχιστον 5 ζώα/φύλο/ομάδα (βλ. πίνακα 1 και επόμενη παράγραφο) μονιμοποιούνται *in situ*, με τη βοήθεια αναγνωρισμένων τεχνικών έγχυσης και μονιμοποίησης (βλ. δημοσίευση (3) κεφ. 5 και δημοσίευση (4) κεφ. 50). Όλες οι μακροσκοπικές αλλοιώσεις θα πρέπει να καταγράφονται. Όταν η μελέτη διεξάγεται αυτοτελώς για τον αποκλεισμό ή μη της νευροτοξικότητας ή για το χαρακτηρισμό νευροτοξικών επιδράσεων, τα υπόλοιπα ζώα μπορούν να υποβληθούν σε ειδικές διαδικασίες μελέτης της συμπεριφοράς (10)(11) και σε νευροπαθολογικές (10)(11)(12)(13), νευροχημικές (10)(11)(14)(15)

ή ηλεκτροφυσιολογικές (10)(11)(16)(17) εξετάσεις, οι οποίες συμπληρώνουν τις διαδικασίες και εξετάσεις που περιγράφονται στην παρούσα κατευθυντήρια γραμμή, ή να προστεθούν στον αριθμό των υποκειμένων της ιστοπαθολογικής εξέτασης. Οι συμπληρωματικές αυτές διαδικασίες είναι ιδιαίτερα χρήσιμες στις περιπτώσεις όπου εμπειρικές παρατηρήσεις ή οι αναμενόμενες επιδράσεις υποδεικνύουν ένα συγκεκριμένο τύπο ή στόχο νευροτοξικότητας (2)(3). Μια άλλη δυνατότητα είναι η χρήση των υπόλοιπων ζώων για τις παθολογικές εκτιμήσεις ρουτίνας που απαιτούν οι μέθοδοι δοκιμών επαναλαμβανόμενης δόσης.

Μετά από στερέωση σε παραφίνη, όλα τα ιστοτεμάχια βάφονται με χρώση γενικής χρήσεως, όπως αιματοξυλίνη και ηωσίνη (H&E), και ακολουθεί μικροσκοπική εξέταση. Εάν υπάρχουν συμπτώματα ή υπόνοιες περιφερειακής νευροπάθειας, θα πρέπει να εξετάζονται δείγματα περιφερειακών νεύρων, στερεωμένα σε πλαστική ύλη. Τα κλινικά συμπτώματα ενδέχεται επίσης να συνηγορούν υπέρ της εξέτασης πρόσθετων θέσεων ή της χρήσης ειδικών χρώσεων. Οδηγίες για πρόσθετες θέσεις προς εξέταση παρέχονται στις δημοσιεύσεις (3)(4). Χρήσιμες είναι επίσης οι ειδικές χρώσεις που αποκαλύπτουν συγκεκριμένους τύπους παθολογικών αλλοιώσεων (18).

Η ιστολογική εξέταση πρέπει να καλύπτει αντιπροσωπευτικές τομές του κεντρικού και του περιφερειακού νευρικού συστήματος (βλ. δημοσίευση (3) κεφ. 5 και δημοσίευση (4) κεφ. 50). Οι εξεταζόμενες περιοχές κατά κανόνα περιλαμβάνουν τον προσεγκέφαλο, τον διεγκέφαλο, συμπεριλαμβανομένης μιας τομής διαμέσου του ιπποκάμπου, τον μεσεγκέφαλο, την παρεγκεφαλίδα, τη γέφυρα, τον προμήκη μυελό, τον οφθαλμό με το οπτικό νεύρο και τον αμφιβληστροειδή, το νωτιαίο μυελό στο ύψος του αυχενικού και του οσφυϊκού ογκώματος, τα γάγγλια ραχιαίας ρίζας, τις ίνες ραχιαίας και κοιλιακής ρίζας, το πρώτο ισχιακό νεύρο, το πρώτο κνημιαίο νεύρο (στο γόνατο) και τους κλάδους του κνημιαίου νεύρου στον γαστροκνήμιο μυ. Οι τομές νωτιαίου μυελού και περιφερειακών νεύρων θα πρέπει να είναι διασταυρούμενες και εγκάρσιες και διαμήκεις. Θα πρέπει να δίδεται προσοχή στην αγγείωση του νευρικού συστήματος. Θα πρέπει επίσης να εξετάζεται ένα δείγμα σκελετικού μυός, ιδίως του γαστροκνήμιου. Ιδιαίτερη προσοχή απαιτούν οι θέσεις του κεντρικού και του περιφερειακού νευρικού συστήματος με κυτταρική και ινώδη δομή, που είναι γνωστό ότι προσβάλλονται ιδιαίτερα από τα νευροτοξικά.

Οδηγίες για τυπικές νευροπαθολογικές αλλοιώσεις που οφείλονται σε έκθεση σε τοξικούς παράγοντες παρέχονται στις δημοσιεύσεις (3)(4). Για την ιστολογική εξέταση συνιστάται κλιμακωτή διαδικασία, η οποία αρχίζει με σύγκριση των τομών που προέρχονται από την ομάδα υψηλής δόσης με τις τομές από την ομάδα μάρτυρα. Εάν δεν παρατηρηθούν νευροπαθολογικές αλλοιώσεις, δεν χρειάζεται άλλη εξέταση. Εάν παρατηρηθούν αλλοιώσεις στα δείγματα από την ομάδα υψηλής δόσης, όλα τα δείγματα πιθανώς προσβεβλημένων ιστών που προέρχονται από τις ομάδες μεσαίας και χαμηλής δόσης λαμβάνουν κωδικό αριθμό και εξετάζονται διαδοχικά.

Εάν η ποιοτική εξέταση δείξει νευροπαθολογικές αλλοιώσεις, όλες οι περιοχές του νευρικού συστήματος που εμφανίζουν τις εν λόγω αλλοιώσεις πρέπει να υποβληθούν σε δεύτερη εξέταση. Τομές από όλες τις πιθανώς προσβεβλημένες περιοχές, προερχόμενες από όλες τις δοσολογικές ομάδες, λαμβάνουν κωδικό αριθμό και εξετάζονται με τυχαία επιλογή, χωρίς γνώση του κωδικού αριθμού. Καταγράφονται η συχνότητα και η σοβαρότητα κάθε βλάβης. Μετά τη βαθμολόγηση όλων των περιοχών από όλες τις δοσολογικές ομάδες, είναι δυνατόν να αποκαλυφθεί η ταυτότητα των δειγμάτων και να ακολουθήσει στατιστική ανάλυση με σκοπό την εκτίμηση των σχέσεων δόσης-απόκρισης. Για κάθε βλάβη, θα πρέπει να περιγράφονται παραδείγματα των διαφόρων βαθμών σοβαρότητας.

Τα νευροπαθολογικά ευρήματα θα πρέπει να συσχετίζονται με τις παρατηρήσεις και μετρήσεις της συμπεριφοράς, καθώς και με άλλα δεδομένα από προηγούμενες ή ταυτόχρονες μελέτες συστηματικής τοξικότητας με αντικείμενο την ελεγχόμενη ουσία.

2 ΔΕΔΟΜΕΝΑ

2.1 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Πρέπει να παρέχονται τα δεδομένα για κάθε ζώο χωριστά. Επιπλέον, το σύνολο των δεδομένων πρέπει να συνοψίζεται σε πίνακα, όπου θα εμφαίνονται, για κάθε ομάδα αγωγής και μάρτυρα, ο αριθμός ζώων κατά την έναρξη της δοκιμής, ο αριθμός ζώων που βρέθηκαν νεκρά στη διάρκεια της δοκιμής ή θανατώθηκαν για να μην υποφέρουν και ο χρόνος θανάτου ή ευθανασίας, ο αριθμός ζώων που παρουσίασαν συμπτώματα τοξικότητας, περιγραφή αυτών των συμπτωμάτων, με αναφορά του χρόνου εκδήλωσης, της διάρκειας, του είδους και της σοβαρότητας των τοξικών επιδράσεων, ο αριθμός ζώων που παρουσίασαν βλάβη/-ες, με αναφορά του είδους και της σοβαρότητάς της/τους.

2.2 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Τα αποτελέσματα της μελέτης θα πρέπει να αξιολογούνται με κριτήρια τη συχνότητα, τη σοβαρότητα και το συσχέτιση των επιδράσεων στη συμπεριφορά, των νευροπαθολογικών επιδράσεων (επίσης, των νευροχημικών ή ηλεκτροφυσιολογικών επιδράσεων, εάν η μελέτη περιλάμβανε συμπληρωματικές εξετάσεις) και τυχόν άλλων δυσμενών επιδράσεων που παρατηρήθηκαν. Τα αριθμητικά αποτελέσματα θα πρέπει, όπου είναι δυνατόν, να αξιολογούνται με κατάλληλη και αναγνωρισμένη στατιστική μέθοδο, η οποία πρέπει να επιλέγεται κατά το σχεδιασμό της μελέτης.

3 ΣΥΝΤΑΞΗ ΕΚΘΕΣΕΩΝ

3.1 ΕΚΘΕΣΗ ΔΟΚΙΜΗΣ

Η έκθεση δοκιμής πρέπει να περιλαμβάνει τα ακόλουθα στοιχεία:

Ελεγχόμενη ουσία:

- Φυσική κατάσταση (συμπεριλαμβάνονται η ισομερείωση, η καθαρότητα και οι φυσικές και χημικές ιδιότητες)·
- στοιχεία ταυτότητας.

Φορέας (κατά περίπτωση):

- αιτιολόγηση της επιλογής του φορέα.

Πειραματόζωα:

- είδος/φυλή που χρησιμοποιήθηκε·
- αριθμό, ηλικία και φύλο των ζώων·
- προέλευση των ζώων, συνθήκες στέγασης, εγκλιματισμό, σιτηρέσιο κλπ.·
- βάρος κάθε ζώου κατά την έναρξη της δοκιμής.

Συνθήκες δοκιμής:

- λεπτομέρειες για το τύπο της ελεγχόμενης ουσίας/παρασκεύασμα σιτηρεσίου, τη συγκέντρωση που επιτεύχθηκε, τη σταθερότητα και την ομοιογένειά του·
- προδιαγραφές των δόσεων που χορηγήθηκαν, με λεπτομέρειες για το φορέα, τον όγκο και τη φυσική μορφή του υλικού που χορηγήθηκε·
- λεπτομέρειες για τη χορήγηση της ελεγχόμενης ουσίας·
- αιτιολόγηση της επιλογής των επιπέδων δόσης·
- αιτιολόγηση της οδού και της διάρκειας έκθεσης·
- μετατροπή από συγκέντρωση της ελεγχόμενης ουσίας στο σιτηρέσιο/πόσιμο νερό (ppm) σε πραγματική δόση (mg/kg βάρους σώματος/ημέρα), εάν έχει εφαρμογή·
- λεπτομέρειες για την ποιότητα της τροφής και του νερού.

Διαδικασίες παρατήρησης και δοκιμών:

- λεπτομέρειες για την επιλογή ζώων από κάθε ομάδα για έγχυση·
- λεπτομέρειες για τα συστήματα βαθμολόγησης, μεταξύ των οποίων κριτήρια και κλίμακες βαθμολόγησης για κάθε μέτρηση στο πλαίσιο της λεπτομερούς κλινικής εξέτασης·
- λεπτομέρειες για τις λειτουργικές εξετάσεις με σκοπό την εκτίμηση των διαφόρων τρόπων αισθητικότητας (π.χ. ακοής, όρασης και ιδιοδεκτικής αισθητικότητας), της ισχύος των άκρων και της κινητικότητας (με λεπτομερείς πληροφορίες για τις αυτόματες συσκευές μέτρησης της κινητικότητας), καθώς και για τυχόν άλλες διαδικασίες που εφαρμόστηκαν·
- λεπτομέρειες για τις οφθαλμολογικές εξετάσεις και, κατά περίπτωση, τις αιματολογικές και τις βιοχημικές αναλύσεις, με αναφορά των αντίστοιχων βασικών τιμών·
- λεπτομέρειες για τις ειδικές διαδικασίες μελέτης της συμπεριφοράς και ιστολογικές, νευροχημικές ή ηλεκτροφυσιολογικές εξετάσεις.

Αποτελέσματα:

- βάρη των ζώων με τις μεταβολές τους, συμπεριλαμβανομένου του βάρους κατά τη θανάτωση·
- κατανάλωση τροφής και νερού, κατά περίπτωση·
- δεδομένα για τις τοξικές αντιδράσεις κατά φύλο και δόση, συμπεριλαμβανομένων των συμπτωμάτων τοξικότητας και της θνησιμότητας·
- φύση, σοβαρότητα και διάρκεια (χρόνος εκδήλωσης και εξέλιξη) των λεπτομερών κλινικών παρατηρήσεων (ανατάξιμων και μη)·
- λεπτομερή αναφορά των αποτελεσμάτων όλων των λειτουργικών εξετάσεων·
- ευρήματα από τη νεκροψία-νεκροτομία·
- λεπτομερή περιγραφή όλων των νευρολογικών, νευροπαθολογικών και νευροχημικών ή ηλεκτροφυσιολογικών ευρημάτων, εφόσον υπάρχουν·
- δεδομένα απορρόφησης και μεταβολισμού, εφόσον υπάρχουν·
- στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων, κατά περίπτωση.

Συζήτηση των αποτελεσμάτων:

- στοιχεία για τη σχέση δόσης-απόκρισης·
- συνεκτίμηση τυχόν άλλων τοξικών επιδράσεων για τη συναγωγή συμπερασμάτων σχετικά με τις νευροτοξικές ιδιότητες της ελεγχόμενης ουσίας·
- επίπεδο στο οποίο δεν παρατηρούνται δυσμενείς επιδράσεις.

Συμπεράσματα:

- Συνιστάται να περιλαμβάνεται γνωμάτευση για τη συνολική νευροτοξικότητα της ελεγχόμενης χημικής ουσίας.

4 **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

1. OECD Guidance Document on Neurotoxicity Testing Strategies and Test Methods. ΟΟΣΑ, Παρίσι, υπό εκπόνηση

2. Test Guideline for a Developmental Neurotoxicity Study, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. In preparation.

3. World Health Organization (WHO) (1986). Environmental Health Criteria document 60: Principles and Methods for the Assessment of Neurotoxicity associated with Exposure to Chemicals.

4. Spencer, P.S. and Schaumburg, H.H. (1980). Experimental and Clinical Neurotoxicology. Eds. Spencer, P.S. and Schaumburg, H.H. eds. Williams and Wilkins, Baltimore/ London.

5. Tupper, D.E. and Wallace, R.B. (1980). Utility of the Neurological Examination in Rats. Acta Neurobiol. Exp., 40, 999-1003.

6. Gad, S.C. (1982). A Neuromuscular Screen for Use in Industrial Toxicology. J. Toxicol. Environ. Health, 9, 691-704.

7. Moser, V.C., McDaniel, K.M. and Phillips, P.M. (1991). Rat Strain and Stock Comparisons Using a Functional Observational Battery: Baseline Values and Effects of amitraz. Toxic. Appl. Pharmacol., 108, 267-283.

8. Meyer, O.A., Tilson, H.A., Byrd, W.C. and Riley, M.T. (1979). A Method for the Routine Assessment of Fore- and Hind- limb Grip Strength of Rats and Mice. Neurobehav. Toxicol., 1, 233-236.

9. Crofton, K.M., Haward, J.L., Moser, V.C., Gill, M.W., Reirer, L.W., Tilson, H.A. and MacPhail, R.C. (1991) Interlaboratory Comparison of Motor Activity Experiments: Implication for Neurotoxicological Assessments. Neurotoxicol. Teratol., 13, 599-609.

10. Tilson, H.A., and Mitchell, C.L. eds. (1992). Neurotoxicology Target Organ Toxicology Series. Raven Press, New York.

11. Chang, L.W., ed. (1995). Principles of Neurotoxicology. Marcel Dekker, New York.

12. Broxup, B. (1991). Neuopathology as a screen for Neurotoxicity Assessment. J. Amer. Coll. Toxicol., 10, 689-695.

13. Moser, V.C., Anthony, D.C., Sette, W.F. and MacPhail, R.C. (1992). Comparison of Subchronic Neurotoxicity of 2-Hydroxyethyl Acrylate and Acrylamide in Rats. Fund. Appl.Toxicol., 18, 343-352.

14. O'Callaghan, J.P. (1988). Neurotypic and Gliotypic Proteins as Biochemical Markers of Neurotoxicity. Eurotoxicol. Teratol., 10, 445-452.

15. O'Callaghan J.P. and Miller, D.B. (1988). Acute Exposure of the Neonatal Rat to Triethyltin Results in Persistent Changes in Neurotypic and Gliotypic Proteins. J. Pharmacol. Exp. Ther., 244, 368-378.

16. Fox. D.A., Lowndes, H.E. and Birkamper, G.G. (1982). Electrophysiological Techniques in Neurotoxicology. In: Nervous System Toxicology. Mitchell, C.L. ed. Raven Press, New York, pp 299-335.

17. Johnson, B.L. (1980). Electrophysiological Methods in neurotoxicity Testing. In: Experimental and Clinical Neurotoxicology. Spencer, P.S. and Schaumburg, H.H. eds., Williams and Wilkins Co.,. Baltimore/London, pp. 726-742.

18. Bancroft, J.D. and Steven A. (1990). Theory and Pratice of Histological Techniques. Chapter 17, Neuropathological Techniques. Lowe, James and Cox, Gordon eds. Churchill Livingstone.

Πίνακας 1:

Ελάχιστος απαιτούμενος αριθμός ζώων ανά ομάδα όταν η μελέτη νευροτοξικότητας διεξάγεται χωριστά ή **σε συνδυασμό με άλλες μελέτες**

	ΔΙΕΞΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΝΕΥΡΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ :			
	αυτοτελώς	**σε συνδυασμό με τη μελέτη 28 ημερών**	**σε συνδυασμό με τη μελέτη 90 ημερών**	**σε συνδυασμό με τη μελέτη χρόνιας τοξικότητας**
Συνολικός αριθμός ζώων ανά ομάδα	10 αρσενικά και 10 θηλυκά	10 αρσενικά και 10 θηλυκά	15 αρσενικά και 15 θηλυκά	25 αρσενικά και 25 θηλυκά
Αριθμός ζώων για λειτουργικές εξετάσεις, που περιλαμβάνουν λεπτομερείς κλινικές παρατηρήσεις	10 αρσενικά και 10 θηλυκά	10 αρσενικά και 10 θηλυκά	10 αρσενικά και 10 θηλυκά	10 αρσενικά και 10 θηλυκά
Αριθμός ζώων για έγχυση και νευροϊστοπαθολογική εξέταση	5 αρσενικά και 5 θηλυκά	5 αρσενικά και 5 θηλυκά	5 αρσενικά και 5 θηλυκά	5 αρσενικά και 5 θηλυκά
Αριθμός ζώων για παρατήρηση και αιματολογικές, βιοχημικές, ιστοπαθολογικές και **λοιπές εξετάσεις σε μελέτη τοξικότητας επαναλαμβανόμενης δόσης/υποχρόνιας/χρόνιας, όπως υποδεικνύεται στις αντίστοιχες** *Κατευθυντήριες γραμμές*		5 αρσενικά και 5 θηλυκά	10 αρσενικά † και 10 θηλυκά †	20 αρσενικά † και 20 θηλυκά †
Συμπληρωματικές παρατηρήσεις, κατά περίπτωση	5 αρσενικά και 5 θηλυκά			

† - Συμπεριλαμβάνονται τα πέντε ζώα που έχουν επιλεγεί για λειτουργικές εξετάσεις και λεπτομερή κλινική εξέταση στο πλαίσιο της μελέτης νευροτοξικότητας.

Πίνακας 2:

Συχνότητα της κλινικής παρατήρησης και **των λειτουργικών εξετάσεων**

Είδος εξέτασης		Μελέτη			
		οξείας τοξικότητας	**28 ημερών**	**90 ημερών**	**χρόνιας τοξικότητας**
Όλα τα ζώα	**Γενική κατάσταση της υγείας**	μία φορά ημερησίως	μία φορά ημερησίως	μία φορά ημερησίως	μία φορά ημερησίως
	Θνησιμότητα/ νοσηρότητα	δύο φορές ημερησίως	δύο φορές ημερησίως	δύο φορές ημερησίως	δύο φορές ημερησίως
Ζώα που έχουν επιλεγεί για λειτουργικές εξετάσεις	**Λεπτομερείς κλινικές παρατηρήσεις**	- πριν από την πρώτη έκθεση - εντός 8 ωρών από τη χορήγηση της δόσης, κατά τον προβλεπόμενο χρόνο κορύφωσης της επίδρασης - την 7η και 14η ημέρα από τη χορήγηση της δόσης	- πριν από την πρώτη έκθεση - κατόπιν, ανά εβδομάδα	- πριν από την πρώτη έκθεση - μία φορά κατά την πρώτη ή δεύτερη εβδομάδα έκθεσης - κατόπιν, ανά μήνα	- πριν από την πρώτη έκθεση - μία φορά στο τέλος του πρώτου μήνα έκθεσης - κατόπιν, ανά τρεις μήνες
	Λειτουργικές εξετάσεις	- πριν από την πρώτη έκθεση - εντός 8 ωρών από τη χορήγηση της δόσης, κατά τον προβλεπόμενο χρόνο κορύφωσης της επίδρασης - την 7η και 14η ημέρα από τη χορήγηση της δόσης	- πριν από την πρώτη έκθεση - στη διάρκεια της τέταρτης εβδομάδας της αγωγής, όσο το δυνατόν πλησιέστερα στο τέλος της περιόδου έκθεσης	- πριν από την πρώτη έκθεση - μία φορά κατά την πρώτη ή δεύτερη εβδομάδα έκθεσης - κατόπιν, ανά μήνα	- πριν από την πρώτη έκθεση - μία φορά στο τέλος του πρώτου μήνα έκθεσης - κατόπιν, ανά τρεις μήνες

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2Θ

Γ.21. ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΕΔΑΦΟΥΣ: ΔΟΚΙΜΗ ΜΕΤΑΤΡΟΠΗΣ ΑΖΩΤΟΥ

1. **ΜΕΘΟΔΟΣ**

Η παρούσα μέθοδος δοκιμής αποτελεί αναπαραγωγή της OECD TG 216 (2000).

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παρούσα μέθοδος δοκιμής περιγράφει εργαστηριακή μέθοδο προοριζόμενη για τη διερεύνηση των μακροπρόθεσμων επιδράσεων χημικών ουσιών, έπειτα από εφάπαξ έκθεση, στην ικανότητα μικροοργανισμών του εδάφους να μετατρέπουν το άζωτο. Η δοκιμή αυτή βασίζεται κυρίως στις συστάσεις του Ευρωπαϊκού και Μεσογειακού Οργανισμού Φυτοπροστασίας (1). Ωστόσο, ελήφθησαν υπόψη και άλλες κατευθυντήριες οδηγίες, συμπεριλαμβανομένων και εκείνων των German Biologische Bundesanstalt (2), του Οργανισμού Προστασίας του Περιβάλλοντος των ΗΠΑ (3), της SETAC (4) και του Διεθνούς Οργανισμού Τυποποίησης (ISO) (5). Σε συνάντηση εργασίας του ΟΟΣΑ για την επιλογή εδαφών/ιζημάτων, που έγινε στο Belgirate, Ιταλία, το 1995 (6) συμφωνήθηκε ο αριθμός και ο τύπος των προς χρήση εδαφών στην παρούσα δοκιμή. Οι συστάσεις για τη συλλογή, χειρισμό και αποθήκευση των εδαφικών δειγμάτων βασίζονται σε κείμενο οδηγιών του ISO (7) και συστάσεις από τη συνάντηση του Belgirate. Για την αξιολόγηση και εκτίμηση των τοξικών χαρακτηριστικών των υπό δοκιμή ουσιών, μπορεί να απαιτείται προσδιορισμός των επιδράσεων στη μικροβιακή δραστικότητα του εδάφους , π.χ. όταν απαιτούνται στοιχεία για τις δυνητικές παρενέργειες προϊόντων προστασίας καλλιεργειών στη μικροχλωρίδα του εδάφους ή όταν αναμένεται έκθεση μικροοργανισμών του εδάφους σε άλλες χημικές ουσίες εκτός προϊόντων προστασίας καλλιεργειών. Η δοκιμή μετατροπής του αζώτου πραγματοποιείται για τον προσδιορισμό των επιδράσεων των εν λόγω χημικών στη μικροχλωρίδα του εδάφους. Εφόσον δοκιμάζονται αγροχημικά (π.χ. προϊόντα προστασίας καλλιεργειών, λιπάσματα, δασοκομικά χημικά), πραγματοποιούνται δοκιμές για τη μετατροπή τόσο του αζώτου όσο και του άνθρακα. Εφόσον δεν δοκιμάζονται αγροχημικά, αρκεί η δοκιμή μετατροπής του αζώτου. Ωστόσο, εάν οι τιμές EC_{50} της δοκιμής μετατροπής του αζώτου για τα εν λόγω χημικά είναι στην περιοχή των τιμών που βρίσκονται για διαθέσιμους στο εμπόριο αναστολείς νιτροποίησης (π.χ. νιτραπυρίνη), μπορεί να διεξαχθεί και δοκιμή μετατροπής του άνθρακα για την απόκτηση περαιτέρω πληροφοριών.

Τα εδάφη συνίστανται από ζώντα και μη ζώντα συστατικά στοιχεία που υφίστανται σε πολύπλοκα και ετερογενή μίγματα. Οι μικροοργανισμοί παίζουν σημαντικό ρόλο στη διάσπαση και μετατροπή οργανικής ύλης σε γόνιμα χώματα με πολλά είδη που συνεισφέρουν σε διάφορες πτυχές της γονιμότητας των εδαφών. Τυχόν μακροπρόθεσμη παρέμβαση σε αυτές τις βιοχημικές διεργασίες μπορεί να έχει ενδεχομένως επίδραση στον κύκλο των θρεπτικών αλάτων και να αλλοιωθεί η γονιμότητα του εδάφους. Σε όλα τα γόνιμα εδάφη επέρχεται μετατροπή του αζώτου και του άνθρακα. Αν και οι μικροβιακές κοινότητες που είναι υπεύθυνες για τις διεργασίες αυτές διαφέρουν από έδαφος σε έδαφος, οι οδοί μετατροπής είναι ουσιαστικώς οι ίδιες.

Η περιγραφόμενη παρούσα μέθοδος δοκιμής προορίζεται για την ανίχνευση μακροπρόθεσμων δυσμενών επιδράσεων μιας ουσίας στη διεργασία μετατροπής του αζώτου σε αερόβια επιφανειακά εδάφη. Η μέθοδος δοκιμής επιτρέπει επίσης την εκτίμηση των επιδράσεων ουσιών στη μετατροπή του άνθρακα από τη μικροχλωρίδα του εδάφους. Ο σχηματισμός νιτρικών γίνεται μετά την αποικοδόμηση των δεσμών άνθρακα-αζώτου. Συνεπώς, εάν βρεθούν τα ίδια ποσοστά παραγωγής νιτρικών σε κατεργασμένα εδάφη και σε εδάφη-μάρτυρες, είναι εξαιρετικά πιθανόν οι βασικές οδοί αποικοδόμησης του άνθρακα να είναι άθικτες και λειτουργικές. Το επιλεγμένο για τη δοκιμή υπόστρωμα (κονιοποιημένο άλευρο μηδικής) εμφανίζει ευνοϊκή σχέση άνθρακα προς άζωτο (συνήθως μεταξύ 12/1 και 16/1). Λόγω τούτου, μειώνεται κατά τη διάρκεια της δοκιμής η στέρηση άνθρακα και εάν μικροβιακές κοινότητες καταστραφούν από κάποιο χημικό, αυτές μπορεί να ανανήψουν μέσα σε 100 ημέρες.

Οι δοκιμές από τις οποίες αναπτύχθηκε η παρούσα μέθοδος δοκιμής είχαν αρχικά σχεδιαστεί για ουσίες για τις οποίες μπορεί να προβλεφθεί η ποσότητα που φθάνει στο έδαφος. Αυτό ισχύει, π.χ., στην περίπτωση προϊόντων προστασίας καλλιεργειών για τα οποία είναι γνωστό το ποσοστό χρήσης στα εδάφη. Για τα αγροχημικά, αρκεί η δοκιμή δύο δόσεων σχετικών με το προαναμενόμενο ή προβλεπόμενο ποσοστό χρήσης. Τα αγροχημικά μπορούν να δοκιμαστούν ως δραστικά συστατικά (δ.σ.) ή ως τυποποιημένης συνθέσεως προϊόντα. Ωστόσο, η δοκιμή δεν περιορίζεται στα αγροχημικά. Αλλάζοντας τόσο τις ποσότητες της εφαρμοζόμενης στο έδαφος υπό δοκιμή ουσίας, όσο και τον τρόπο με τον οποίο αξιολογούνται τα δεδομένα, η δοκιμή μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για χημικά για τα οποία δεν είναι γνωστή η αναμενόμενη να φθάσει στο έδαφος ποσότητα.. Έτσι, στην περίπτωση χημικών που δεν εμπίπτουν στην κατηγορία των αγροχημικών, προσδιορίζονται οι επιδράσεις μιας σειράς συγκεντρώσεων στην μετατροπή του αζώτου. Τα στοιχεία από τις δοκιμές αυτές χρησιμοποιούνται για τη χάραξη καμπύλης δόσεως-απόκρισης και τον υπολογισμό τιμών EC_x, όπου το x ορίζεται ως η % επίδραση.

1.2 ΟΡΙΣΜΟΙ

Μετατροπή αζώτου: είναι η τελική αποικοδόμηση από μικροοργανισμούς οργανικής ύλης που περιέχει άζωτο, μέσω των διεργασιών της αμμωνιοποίησης και νιτροποίησης, στο αντίστοιχο ανόργανο τελικό νιτρικό προϊόν.

EC_x (δραστική συγκέντρωση x): είναι η συγκέντρωση της υπό δοκιμή ουσίας στο έδαφος, η οποία απολήγει σε x % αναστολή της μετατροπής του αζώτου σε νιτρικά.

EC_{50} (διάμεση δραστική συγκέντρωση): είναι η συγκέντρωση της υπό δοκιμή ουσίας στο έδαφος, η οποία απολήγει σε 50 % αναστολή της μετατροπής του αζώτου σε νιτρικά.

1.3 ΟΥΣΙΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Καμμία

1.4 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΗΣ

Κοσκινισμένο χώμα τροποποιείται με την προσθήκη κονιοποιημένου αλεύρου μηδικής και στη συνέχεια είτε υποβάλλεται σε κατεργασία με την υπό δοκιμή ουσία, είτε αφήνεται ακατέργαστο (μάρτυρας). Εάν δοκιμάζονται αγροχημικά, συνιστώνται κατ' ελάχιστο δύο συγκεντρώσεις για δοκιμή επιλεγόμενες μεταξύ των υψηλότερων αναμενόμενων επιτόπιων συγκεντρώσεων. Μετά 0, 7, 14 ημέρες και 28 ημέρες επώασης, εκχυλίζονται με κατάλληλο διαλύτη δείγματα κατεργασμένων και μη κατεργασμένων εδαφών και προσδιορίζονται οι ποσότητες των νιτρικών στα εκχυλίσματα. Το ποσοστό σχηματισμού νιτρικών στα κατεργασμένα δείγματα συγκρίνεται με το ποσοστό στα δείγματα-μάρτυρες και υπολογίζεται η % απόκλιση των κατεργασμένων από τα μη κατεργασμένα (μάρτυρες). Όλες οι δοκιμές διαρκούν τουλάχιστον 28 ημέρες. Εάν, την 28η ημέρα, οι διαφορές μεταξύ κατεργασμένων και μη κατεργασμένων εδαφών είναι ίσες ή μεγαλύτερες του 25%, οι μετρήσεις συνεχίζονται μέχρι 100 ημέρες το πολύ. Εάν δεν δοκιμάζονται αγροχημικά, στα δείγματα του εδάφους προστίθεται μια σειρά συγκεντρώσεων της υπό δοκιμή ουσίας και μετά 28 ημέρες επώασης μετρώνται οι ποσότητες των νιτρικών που σχηματίζονται στα κατεργασμένα δείγματα και στα δείγματα μάρτυρες. Τα αποτελέσματα από τις δοκιμές με τις πολλαπλές συγκεντρώσεις αναλύονται χρησιμοποιώντας ένα μοντέλο αναγωγής και υπολογίζονται οι τιμές EC_x (δη. EC_{50}, EC_{25} και/ή EC_{10}). Βλ. ορισμούς.

1.5 ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Οι αξιολογήσεις των αποτελεσμάτων των δοκιμών με αγροχημικά βασίζονται σε σχετικώς μικρές διαφορές (δηλ. μέση τιμή ±25%) μεταξύ των συγκεντρώσεων νιτρικών σε δείγματα κατεργασμένων εδαφών και εδαφών μαρτύρων, έτσι τυχόν μεγάλες διακυμάνσεις στους μάρτυρες μπορεί να οδηγήσουν σε εσφαλμένα αποτελέσματα. Συνεπώς, η διακύμανση μεταξύ επαναληπτικών δειγμάτων μαρτύρων θα πρέπει να είναι μικρότερη του ±15%.

1.6 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΗΣ

1.6.1 **Εξοπλισμός**

Χρησιμοποιούνται δοχεία δοκιμής κατασκευασμένα από χημικώς αδρανές υλικό. Τα δοχεία θα πρέπει να είναι κατάλληλης χωρητικότητας ανάλογα με τη χρησιμοποιούμενη διαδικασία για την επώαση των εδαφών, δηλ. επώαση σε χύδην κατάσταση ή ως σειρά επιμέρους δειγμάτων εδάφους (βλ. ενότητα 1.7.1.2). Θα πρέπει να λαμβάνεται πρόνοια τόσο για την ελαχιστοποίηση της απώλειας νερού όσο και για την παροχή δυνατότητας ανταλλαγής αερίων (π.χ. τα δοχεία δοκιμής μπορούν να καλύπτονται με διάτρητο φύλλο πολυαιθυλενίου). Όταν δοκιμάζονται πτητικές ουσίες, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται σφραγιζόμενα και αεροστεγή δοχεία. Τα δοχεία θα πρέπει να είναι κατάλληλου μεγέθους ώστε με το εδαφικό δείγμα να πληρούται το ένα τέταρτο περίπου του όγκου τους.

Χρησιμοποιείται συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός, συμπεριλαμβανομένων των ακολούθων:

— διάταξη αναδεύσεως: μηχανικός αναδευτήρας ή παρόμοιος εξοπλισμός

— φυγόκεντρος (3000 g) ή διάταξη διηθήσεως (με χρήση χάρτινου ηθμού απηλλαγμένου νιτρικών)

— όργανο κατάλληλης ευαισθησίας και αναπαραγωγιμότητας για ανάλυση νιτρικών.

1.6.2 **Επιλογή και αριθμός εδαφών**

Χρησιμοποιείται ένα μοναδικό έδαφος. Τα συνιστώμενα εδαφικά χαρακτηριστικά είναι τα εξής:

— περιεκτικότητα σε άμμο: τουλάχιστον 50% μέχρι το πολύ 75%

— pH: 5.5 - 7.5;

— περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα: 0.5 - 1.5%;

— θα πρέπει να μετριέται η μικροβιακή βιομάζα (8)(9) και η περιεκτικότητά της σε άνθρακα θα πρέπει να είναι τουλάχιστον 1% του συνόλου του οργανικού άνθρακα του εδάφους.

Στις περισσότερες περιπτώσεις, έδαφος με τα χαρακτηριστικά αυτά αντιπροσωπεύει τη χειρότερη περίπτωση, αφού η προσρόφηση του υπό δοκιμή χημικού είναι ελάχιστη και η διαθεσιμότητά του στη μικροχλωρίδα μέγιστη. Συνεπώς, δεν χρειάζονται εν γένει δοκιμές με άλλα εδάφη. Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις, π.χ. όταν η προβλεπόμενη κύρια χρήση της υπό δοκιμή ουσίας είναι για συγκεκριμένα εδάφη, όπως όξινα εδάφη δασών, ή στην περίπτωση ηλεκτροστατικώς φορτισμένων χημικών, μπορεί να χρειάζεται να χρησιμοποιηθεί και κάποιο άλλο ακόμη έδαφος.

1.6.3 **Συλλογή και αποθήκευση δειγμάτων εδαφών**

1.6.3.1 *Συλλογή*

Θα πρέπει να υπάρχουν διαθέσιμες λεπτομερείς πληροφορίες για το ιστορικό του συγκεκριμένου τόπου από τον οποίο συλλέγεται το προς δοκιμή δείγμα. Στα στοιχεία πρέπει να περιλαμβάνονται η ακριβής τοποθεσία, η υπάρχουσα βλάστηση, οι ημερομηνίες κατεργασίας με προϊόντα προστασίας καλλιεργειών, κατεργασίες με οργανικά και ανόργανα λιπάσματα, προσθήκες βιολογικών υλικών ή τυχαίες επιμολύνσεις. Ο επιλεγμένος τόπος για τη συλλογή εδάφους θα πρέπει να επιτρέπει τη μακροπρόθεσμη χρήση. Κατάλληλοι προς τούτο είναι μόνιμα βοσκοτόπια, αγροί με ετήσιες καλλιέργειες δημητριακών (εκτός αραβοσίτου) ή πυκνοσπαρμένοι με χλωρό λίπασμα. Ο επιλεγμένος τόπος δειγματοληψίας δεν θα πρέπει να έχει υποβληθεί σε κατεργασία με προϊόντα προστασίας καλλιεργειών για ένα τουλάχιστον χρόνο πριν από τη δειγματοληψία. Επίσης, για έξι μήνες τουλάχιστον δεν θα πρέπει να έχει χρησιμοποιηθεί οργανικό λίπασμα. Η χρήση ανόργανου λιπάσματος είναι αποδεκτή μόνον όταν είναι σύμφωνη με τις απαιτήσεις της καλλιέργειας και δεν θα πρέπει να λαμβάνονται δείγματα εδάφους παρά μόνον τρεις μήνες τουλάχιστον μετά από τη χρήση του λιπάσματος. Θα πρέπει να αποφεύγεται η χρήση εδάφους κατεργασμένου με λιπάσματα με γνωστές βιοκτόνες επιδράσεις (π.χ. κυαναμίδιο ασβεστίου).

Θα πρέπει να αποφεύγεται δειγματοληψία κατά τη διάρκεια ή αμέσως μετά μακρές περιόδους (μεγαλύτερες των 30 ημερών) ξηρασίας ή κατάκλυσης με νερό. Για οργωμένα εδάφη, τα δείγματα θα πρέπει να λαμβάνονται από βάθος 0 έως 20 cm. Για χορτολιβαδικές εκτάσεις (βοσκές) ή άλλα εδάφη τα οποία δεν οργώνονται για μακρότερες περιόδους (τουλάχιστον μία καλλιεργητική περίοδος), το μέγιστο βάθος δειγματοληψίας μπορεί να είναι ελαφρώς μεγαλύτερο από 20 cm (π.χ. έως 25 cm).

Τα δείγματα εδάφους θα πρέπει να μεταφέρονται χρησιμοποιώντας δοχεία και υποθερμοκρασιακές συνθήκες που να εγγυώνται ότι δεν υπάρχει περίπτωση σημαντικής μεταβολής των αρχικών ιδιοτήτων του εδάφους.

1.6.3.2 *Αποθήκευση*

Προτιμάται η χρήση εδαφών προσφάτως συλλεγέντων από την τοποθεσία συλλογής. Εάν δεν μπορεί να αποφευχθεί η αποθήκευση στο εργαστήριο, τα εδάφη μπορούν να αποθηκεύονται στο σκοτάδι στους 4±2°C για τρεις μήνες κατ' ανώτατο όριο. Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης των εδαφών, πρέπει να διασφαλίζεται η ύπαρξη αερόβιων συνθηκών. Εάν τα εδάφη συλλέγονται από περιοχές όπου είναι κατεψυγμένα για τρεις μήνες τουλάχιστον το χρόνο, μπορεί να εξεταστεί και η αποθήκευση για έξι μηνες στους -18°C έως -22°C. Πριν από κάθε πείραμα μετριέται η μικροβιακή βιομάζα των αποθηκευμένων εδαφών, ο άνθρακας δε στη βιομάζα θα πρέπει να είναι τουλάχιστον 1% του συνολικώς περιεχομένου στο έδαφος οργανικού άνθρακα (βλ. ενότητα 1.6.2).

1.6.4 **Χειρισμός και προετοιμασία των εδαφών για τη δοκιμή**

1.6.4.1 *Προεπώαση*

Εφόσον το έδαφος αποθηκεύτηκε (βλ. ενότητα 1.6.3.2), συνιστάται προεπώαση για μια περίοδο μεταξύ 2 και 28 ημερών. Η θερμοκρασία και υγρασία του εδάφους κατά τη διάρκεια της προεπώασης θα πρέπει να είναι παρόμοιες με τις χρησιμοποιούμενες στη δοκιμή (βλ. ενότητες 1.6.4.2 και 1.7.1.3).

1.6.4.2 *Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά*

Το έδαφος καθαρίζεται με το χέρι από τυχόν ενυπάρχοντα μεγάλα αντικείμενα (π.χ. πέτρες, μέρη φυτών, κλπ) και κατόπιν κοσκινίζεται εν υγρώ χωρίς υπερβολική ξήρανση για λήψη σωματιδίων μεγέθους μέχρι το πολύ 2 mm. Η υγρασία του δείγματος εδάφους θα πρέπει να ρυθμίζεται με αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό σε τιμή μεταξύ 40 και 60% της μέγιστης ικανότητας για συγκράτηση νερού.

1.6.4.3 *Τροποποίηση με οργανικό υπόστρωμα*

Το έδαφος θα πρέπει να τροποποιείται με κατάλληλο οργανικό υπόστρωμα, π.χ. κονιοποιημένο άλευρο πράσινης μηδικής (κύριο συστατικό: *Medicago sativa)* με λόγο C/N μεταξύ 12/1 και 16/1. Ο συνιστώμενος λόγος μηδικής-εδάφους είναι 5 g μηδικής ανά χιλιόγραμμο εδάφους (ξηρά μάζα).

1.6.5 **Προετοιμασία της υπό δοκιμή ουσίας για εφαρμογή στο έδαφος**

Η υπό δοκιμή ουσία εφαρμόζεται κυρίως χρησιμοποιώντας κάποιον φορέα. Ο φορέας μπορεί να είναι νερό (για υδατοδιαλυτές ουσίες) ή αδρανές στερεό όπως λεπτή χαλαζιακή άμμος (μέγεθος σωματιδίων: 0.1-0.5mm). Άλλοι υγροί φορείς (π.χ. οργανικοί διαλύτες όπως ακετόνη, χλωροφόρμιο) εκτός νερού θα πρέπει να αποφεύγονται επειδή μπορεί να καταστρέψουν τη μικροχλωρίδα. Εφόσον ως φορέας χρησιμοποιείται άμμος, αυτή μπορεί να επιχρίεται με την υπό δοκιμή ουσία διαλελυμένη ή εναιωρούμενη σε κατάλληλο διαλύτη. Στις περιπτώσεις αυτές, ο διαλύτης θα πρέπει να απομακρύνεται με εξάτμιση πριν από την ανάμειξη με το έδαφος. Για άριστη κατανομή της υπό δοκιμή ουσίας στο έδαφος, συνιστάται μια σχέση 10 g άμμου ανά χιλιόγραμμο εδάφους (ξηρά μάζα). Τα δείγματα-μάρτυρες υποβάλλονται σε κατεργασία με ισοδύναμη ποσότητα νερού και/ή χαλαζιακής άμμου μόνον.

Όταν δοκιμάζονται πτητικά χημικά, θα πρέπει να αποφεύγονται κατά το δυνατόν απώλειες κατά την κατεργασία και να γίνεται προσπάθεια για τη διασφάλιση ομοιογενούς κατανομής στο έδαφος (π.χ. η υπό δοκιμή ουσία θα πρέπει να εγχύεται στο έδαφος σε διάφορα σημεία).

1.6.6 **Συγκεντρώσεις δοκιμής**

Όταν δοκιμάζονται αγροχημικά, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται τουλάχιστον δύο συγκεντρώσεις. Η μικρότερη συγκέντρωση θα πρέπει να αντιπροσωπεύει τουλάχιστον τη μέγιστη ποσότητα που αναμένεται να φθάσει στο έδαφος υπό συνθήκες συναντώμενες στην πράξη ενώ η μεγαλύτερη συγκέντρωση θα πρέπει να είναι πολλαπλάσια της μικρότερης συγκέντρωσης. Οι συγκεντρώσεις της προστιθέμενης στο έδαφος υπό δοκιμή ουσίας υπολογίζονται υποθέτοντας ομοιόμορφη ενσωμάτωση μέχρι βάθους 5 cm και φαινόμενη πυκνότητα εδάφους 1.5. Για αγροχημικά που εφαρμόζονται απευθείας στο έδαφος, ή για χημικά για τα οποία μπορεί να προβλεφθεί η ποσότητα που φθάνει στο έδαφος, οι συνιστώμενες συγκεντρώσεις δοκιμής είναι η μέγιστη Προβλεπόμενη Περιβαλλοντική Συγκέντρωση (ΠΠΣ) και το πενταπλάσιο αυτής της συγκέντρωσης. Ουσίες που αναμένεται να εφαρμοστούν σε εδάφη αρκετές φορές σε μια καλλιεργητική περίοδο θα πρέπει να δοκιμάζονται σε συγκεντρώσεις προκύπτουσες από τον πολλαπλασιασμό της ΠΠΣ επί το μέγιστο αναμενόμενο αριθμό εφαρμογών. Η μεγαλύτερη, ωστόσο, συγκέντρωση δοκιμής δεν θα πρέπει να υπερβαίνει το δεκαπλάσιο του μέγιστου εφάπαξ ποσοστού εφαρμογής. Εάν δοκιμάζονται μη αγροχημικά, χρησιμοποιείται γεωμετρική σειρά πέντε τουλάχιστον συγκεντρώσεων. Οι συγκεντρώσεις δοκιμής θα πρέπει να καλύπτουν το εύρος που απαιτείται για τον προσδιορισμό των τιμών EC_x.

1.7 ΕΚΤΕΛΕΣΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

1.7.1 **Συνθήκες έκθεσης**

1.7.1.1 *Κατεργασία και έλεγχος*

Εάν δοκιμάζονται αγροχημικά, το εδαφικό δείγμα διαιρείται σε τρία τμήματα ίσου βάρους. Δύο τμήματα αναμειγνύονται με το φορέα που περιέχει το προϊόν, ενώ το άλλο αναμειγνύεται με το φορέα χωρίς το προϊόν (μάρτυρας). Τόσο για τα κατεργασμένα όσο και για τα ακατέργαστα εδάφη συνιστάται η παρασκευή τουλάχιστον τριών επαναληπτικών δειγμάτων. Εάν δοκιμάζονται μη αγροχημικά, το εδαφικό δείγμα χωρίζεται σε έξι τμήματα ίσου βάρους. Πέντε από τα δείγματα αναμειγνύονται με τον φορέα που περιέχει την υπό δοκιμή ουσία, ενώ το έκτο δείγμα αναμειγνύεται με τον φορέα χωρίς το χημικό. Τόσο για τα κατεργασμένα, όσο και για τους μάρτυρες, συνιστάται η παρασκευή τριών επαναληπτικών δειγμάτων. Θα πρέπει να δίδεται προσοχή ώστε να διασφαλίζεται η ομοιογενής κατανομή της υπό δοκιμή ουσίας στα κατεργασμένα εδαφικά δείγματα. Κατά τη διάρκεια της ανάμειξης, θα πρέπει να αποφεύγεται το έδαφος να λαμβάνει συμπαγή μορφή ή μορφή σβώλων.

1.7.1.2 *Επώαση των εδαφικών δειγμάτων*

Η επώαση των εδαφικών δειγμάτων μπορεί να γίνεται με δύο τρόπους: ως χύδην δείγματα κάθε κατεργασμένου και μη κατεργασμένου εδάφους ή ως σειρά επιμέρους και ταυτόσημου μεγέθους μερικών δειγμάτων κάθε κατεργασμένου και μη κατεργασμένου εδάφους. Ωστόσο, όταν δοκιμάζονται πτητικές ουσίες, η δοκιμή θα πρέπει να γίνεται μόνον μια μια σειρά επιμέρους μερικών δειγμάτων. Όταν τα εδάφη επωάζονται χύδην, προετοιμάζονται μεγάλες ποσότητες κάθε κατεργασμένου και μη εδάφους και τα προς ανάλυση μερικά δείγματα λαμβάνονται όπως απαιτείται κατά τη διάρκεια της δοκιμής. Η αρχικώς προετοιμαζόμενη ποσότητα για κάθε κατεργασία και μαρτυρία εξαρτάται από το μέγεθος των μερικών δειγμάτων, τον αριθμό των επαναληπτικών δειγμάτων που χρησιμοποιούνται για ανάλυση και τον αναμενόμενο μέγιστο αριθμό χρόνων δειγματοληψίας. Τα χύδην επωαζόμενα εδάφη θα πρέπει να αναμειγνύονται επισταμένως πριν από τη λήψη των μερικών δειγμάτων. Όταν τα εδάφη επωάζονται ως σειρά επιμέρους εδαφικών δειγμάτων, κάθε χύδην κατεργασμένο και μη έδαφος διαιρείται στον απαιτούμενο αριθμό μερικών δειγμάτων και τα τελευταία χρησιμοποιούνται όπως απαιτείται. Σε δοκιμές όπου μπορούν να αναμένονται περισσότεροι των δύο χρόνοι δειγματοληψίας, θα πρέπει να παρασκευάζεται ικανός αριθμός μερικών δειγμάτων ώστε να καλύπτονται, από πλευράς αριθμού, το σύνολο των επαναληπτικών δειγμάτων και των χρόνων δειγματοληψίας. Θα πρέπει να επωάζονται τουλάχιστον τρία επαναληπτικά δείγματα του υπό δοκιμή εδάφους υπό αερόβιες συνθήκες (βλ. ενότητα 1.7.1.1). Κατά τη διάρκεια όλων των δοκιμών, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται δοχεία με επαρκή κενό χώρο άνωθεν για να αποφεύγεται η ανάπτυξη αναερόβιων συνθηκών. Όταν δοκιμάζονται πτητικές ουσίες, η δοκιμή θα πρέπει να εκτελείται μόνον με μια σειρά επιμέρους μερικών δειγμάτων.

1.7.1.3 *Συνθήκες και διάρκεια δοκιμής*

Η δοκιμή εκτελείται στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου 20±2°C. Η υγρασία των εδαφικών δειγμάτων θα πρέπει να διατηρείται κατά τη διάρκεια της δοκιμής μεταξύ 40% και 60% της μέγιστης ικανότητας συγκράτησης νερού του εδάφους (βλ. ενότητα 1.6.4.2) με διακύμανση ±5%. Εφόσον χρειάζεται, μπορεί να προστεθεί απεσταγμένο, απιονισμένο νερό.

Η ελάχιστη διάρκεια των δοκιμών είναι 28 ημέρες. Εάν δοκιμάζονται αγροχημικά, συγκρίνονται τα ποσοστά σχηματισμού νιτρικών σε κατεργασμένα και σε δείγματα μάρτυρες. Εάν την 28η ημέρα διαφέρουν κατά ποσοστό άνω του 25%, η δοκιμή συνεχίζεται μέχρις ότου ληφθεί διαφορά ίση ή μικρότερη του 25%, ή για μέγιστο χρονικό διάστημα 100 ημερών, ανάλογα με το ποιο επιτυγχάνεται συντομότερα. Για μη αγροχημικά, η δοκιμή τερματίζεται μετά 28 ημέρες. Την 28η ημέρα, προσδιορίζονται οι ποσότητες των νιτρικών στα κατεργασμένα και στα δείγματα μάρτυρες και υπολογίζονται οι τιμές EC_x.

1.7.2 **Δειγματοληψία και ανάλυση εδαφών**

1.7.2.1 *Χρονοδιάγραμμα δειγματοληψίας εδαφών*

Εάν δοκιμάζονται αγροχημικά, τα εδαφικά δείγματα αναλύονται για νιτρικά κατά τις ημέρες 0, 7, 14 και 28. Εάν απαιτείται παρατεταμένη δοκιμή, θα πρέπει να γίνονται περαιτέρω μετρήσεις σε διαστήματα 14 ημερών μετά την 28η ημέρα.

Εάν δοκιμάζονται μη αγροχημικά, χρησιμοποιούνται τουλάχιστον πέντε συγκεντρώσεις δοκιμής και τα εδαφικά δείγματα αναλύονται για χημικά στην αρχή (ημέρα 0) και στο τέλος της περιόδου έκθεσης (28 ημέρες). Εφόσον κριθεί αναγκαίο, μπορεί να προστεθεί και μια ενδιάμεση μέτρηση, π.χ. την 7η ημέρα. Τα δεδομένα της 28ης ημέρας χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της τιμής EC_x του χημικού. Εφόσον είναι επιθυμητό, για την αναφορά της αρχικής ποσότητας νιτρικών στο έδαφος μπορούν να χρησιμοποιηθούν δεδομένα από τα δείγματα-μάρτυρες της ημέρας 0.

1.7.2.2 *Ανάλυση εδαφικών δειγμάτων*

Σε κάθε χρόνο δειγματοληψίας προσδιορίζεται η ποσότητα των νιτρικών που σχηματίζονται σε κάθε επαναληπτικό κατεργασμένο δείγμα και δείγμα-μάρτυρα. Τα νιτρικά εκχυλίζονται από το έδαφος αναδεύοντας δείγματα με κατάλληλο διαλύτη εκχύλισης, π.χ. διάλυμα χλωριούχου καλίου 0.1 M. Συνιστάται μια σχέση 5 ml διαλύματος KCl ανά γραμμάριο ξηρού βάρους ισοδύναμου εδάφους. Για βελτιστοποίηση της εκχύλισης, τα δοχεία με το έδαφος και το διάλυμα εκχύλισης δεν θα πρέπει να είναι γεμάτα πάνω από το μισό. Τα μίγματα αναδεύονται με 150 rpm για 60 λεπτά. Τα μίγματα φυγοκεντρούνται ή διηθούνται και οι υγρές φάσεις αναλύονται για νιτρικά. Υγρά εκχυλίσματα απηλλαγμένα σωματιδίων μπορούν να αποθηκευτούν πριν από την ανάλυση σε θερμοκρασία -20±5 °C για μέχρι έξι μήνες.

2 ΔΕΔΟΜΕΝΑ

2.1 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Εάν διεξάγονται δοκιμές με αγροχημικά, θα πρέπει να καταγράφεται η ποσότητα των νιτρικών που σχηματίζονται σε κάθε επαναληπτικό δείγμα εδάφους και να καταγράφονται σε πίνακα οι μέσες τιμές όλων των επαναληπτικών δειγμάτων. Τα ποσοστά μετατροπής του αζώτου θα πρέπει να εκτιμώνται με κατάλληλες και εν γένει αποδεκτές στατιστικές μεθόδους (π.χ. F-δοκιμή, 5% επίπεδο σημαντικότητας). Οι ποσότητες των σχηματιζομένων νιτρικών εκφράζονται σε mg νιτρικών/kg ξηρού βάρους εδάφους/ημέρα. Το ποσοστό μετατροπής νιτρικών σε κάθε κατεργασία συγκρίνεται με εκείνο του μάρτυρα και υπολογίζεται η % απόκλιση από τον μάρτυρα.

Εάν πραγματοποιούνται δοκιμές με μη αγροχημικά, προσδιορίζεται η ποσότητα των νιτρικών σε κάθε επαναληπτικό δείγμα και χαράσσεται καμπύλη δόσης-απόκρισης για υπολογισμό των τιμών EC_x. Οι ανευρισκόμενες ποσότητες νιτρικών (δηλ. mg νιτρικών/kg ξηρού βάρους εδάφους) στα κατεργασμένα δείγματα μετά 28 ημέρες συγκρίνονται με τις ανευρισκόμενες στο μάρτυρα. Από τα στοιχεία αυτά, υπολογίζονται οι % τιμές αναστολής για κάθε συγκέντρωση δοκιμής. Τα % ποσοστά αυτά καταγράφονται γραφικώς συναρτήσει της συγκεντρώσεως και στη συνέχεια χρησιμοποιούνται στατιστικές διαδικασίες για τον υπολογισμό των τιμών EC_x. Προσδιορίζονται επίσης όρια εμπιστοσύνης ($p = 0.95$) για τις υπολογιζόμενες τιμές EC_x χρησιμοποιώντας τυποποιημένες διαδικασίες (10)(11)(12).

Οι υπό δοκιμή ουσίες που περιέχουν υψηλές ποσότητες αζώτου μπορεί να συνεισφέρουν στις ποσότητες νιτρικών που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της δοκιμής. Εάν οι ουσίες αυτές δοκιμάζονται σε υψηλή συγκέντρωση (π.χ. χημικά που αναμένεται να χρησιμοποιηθούν επανειλημμένως), στη δοκιμή πρέπει να περιλαμβάνονται κατάλληλοι μάρτυρες (δηλ. έδαφος με υπό δοκιμή ουσία αλλά χωρίς φυτάλευρο). Στους υπολογισμούς EC_x πρέπει να λαμβάνονται υπόψη τα δεδομένα από τους ελέγχους αυτούς.

2.2 ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Όταν υπολογίζονται αποτελέσματα από δοκιμές με αγροχημικά και η διαφορά στα ποσοστά σχηματισμού νιτρικών μεταξύ της με χαμηλότερο ποσοστό κατεργασίας (δηλ. της μέγιστης προβλεπόμενης συγκέντρωσης) και μάρτυρα είναι ίση ή μικρότερη του 25% σε οποιοδήποτε χρόνο δειγματοληψίας μετά την 28η ημέρα, το προϊόν μπορεί να αξιολογηθεί ως μη έχον μακροπρόθεσμη επίδραση στη μετατροπή του αζώτου στα εδάφη. Όταν αξιολογούνται αποτελέσματα από δοκιμές με χημικά άλλα εκτός των αγροχημικών, χρησιμοποιούνται οι τιμές EC_{50}, EC_{25} και/ή EC_{10}.

3 ΈΚΘΕΣΗ

Η έκθεση δοκιμής πρέπει να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:

Πλήρη ταυτοποίηση του χρησιμοποιηθέντος εδάφους, συμπεριλαμβανομένων των εξής:

— γεωγραφικό στίγμα του τόπου (γεωγραφικό πλάτος και μήκος)

— πληροφορίες για το ιστορικό του τόπου (δηλ. κάλυψη από βλάστηση, κατεργασίες με προϊόντα προστασίας καλλιεργειών, κατεργασίες με λιπάσματα, τυχαία επιμόλυνση, κλπ)

— πρότυπο χρήσης (π.χ. γεωργικό έδαφος, δάσος, κλπ.)

— βάθος δειγματοληψίας (cm);

— περιεκτικότητα σε άμμο/ιλύ/άργιλο (% επί ξηρού βάρους)

— pH (στο νερό)

— περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα (% επί ξηρού βάρους)

— περιεκτικότητα σε άζωτο (% επί ξηρού βάρους)

— αρχική συγκέντρωση νιτρικών (mg νιτρικών/kg ξηρής μάζας)

— κατιοανταλλακτική ικανότητα (mmol/kg)

— μικροβιακή βιομάζα ως ποσοστό του συνολικού οργανικού άνθρακα

— αναφορά των χρησιμοποιηθεισών μεθόδων για τον προσδιορισμό κάθε παραμέτρου

— κάθε πληροφορία σχετικά με τη συλλογή και αποθήκευση εδαφικών δειγμάτων

— λεπτομέρειες για την προεπώαση του εδάφους, εφόσον συντρέχει περίπτωση.

Υπό δοκιμή ουσία:

— φυσική κατάσταση της ουσίας και, όπου χρειάζεται, φυσικοχημικές ιδιότητες

— δεδομένα χημικής ταυτοποίησης, όπου χρειάζεται, συμπεριλαμβανομένου του χημικού τύπου, της καθαρότητας (δηλ. για προϊόντα προστασίας καλλιεργειών, το ποσοστό του δραστικού συστατικού), περιεκτικότητα σε άζωτο.

Υπόστρωμα:

— πηγή υποστρώματος,

— σύνθεση (δηλ. άλευρο μηδικής, άλευρο πράσινης μηδικής),

— περιεκτικότητα σε άνθρακα, άζωτο (% επί ξηρού βάρους),

— μέγεθος κοσκίνου (mm).

Συνθήκες δοκιμής:

— λεπτομέρειες της τροποποίησης του εδάφους με οργανικό υπόστρωμα,

— αριθμός χρησιμοποιηθεισών συγκεντρώσεων του υπό δοκιμή χημικού και, όπου κρίνεται σκόπιμο, αιτιολόγηση των επιλεγεισών συγκεντρώσεων,

— λεπτομέρειες για την εφαρμογή της υπό δοκιμή ουσίας στο έδαφος,

— θερμοκρασία επώασης,

— υγρασία εδάφους στη αρχή και κατά τη διάρκεια της δοκιμής,

— χρησιμοποιηθείσα μέθοδος επώασης εδάφους (δηλ. χύδην ή ως σειρά επιμέρους μερικών δειγμάτων),

— αριθμός επαναληπτικών δειγμάτων,

— χρόνοι δειγματοληψίας,

— χρησιμοποιηθείσα μέθοδος για εκχύλιση των νιτρικών από το έδαφος

Αποτελέσματα:

— χρησιμοποιηθείσα αναλυτική διαδικασία και εξοπλισμός για ανάλυση των νιτρικών,

— δεδομένα σε μορφή πίνακα, συμπεριλαμβανομένων μεμονωμένων και μέσων τιμών για μετρήσεις νιτρικών,

— διακύμανση μεταξύ των επαναληπτικών δειγμάτων σε κατεργασμένα δείγματα και σε δείγματα μάρτυρες,

— εξηγήσεις διορθώσεων που έγιναν στους υπολογισμούς, εφόσον συντρέχει περίπτωση,

— η % διακύμανση στα ποσοστά σχηματισμού νιτρικών σε κάθε χρόνο δειγματοληψίας ή, εάν κρίνεται σκόπιμο, η τιμή EC_{50} με 95% όριο εμπιστοσύνης, άλλες τιμές EC_x (π.χ. EC_{25} ή EC_{10}) με διαστήματα εμπιστοσύνης και ένα γράφημα της καμπύλης δόσης-απόκρισης,

— στατιστική κατεργασία αποτελεσμάτων,

— κάθε πληροφορία και παρατήρηση χρήσιμη για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

4 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

(1) EPPO (1994). Decision-Making Scheme for the Environmental Risk Assessment of Plant Protection Chemicals. Chapter 7: Soil Microflora. EPPO Bulletin 24: 1-16, 1994.

(2) BBA (1990). Effects on the Activity of the Soil Microflora. BBA Guidelines for the Official Testing of Plant Protection Products, VI, 1-1 (2nd eds., 1990).

(3) EPA (1987). Soil Microbial Community Toxicity Test. EPA 40 CFR Part 797.3700. Toxic Substances Control Act Test Guidelines; Proposed rule. September 28, 1987.

(4) SETAC-Europe (1995). Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides, Ed. M.R. Lynch, Pub. SETAC-Europe, Brussels.

(5) ISO/DIS 14238 (1995). Soil Quality - Determination of Nitrogen Mineralisation and Nitrification in Soils and the Influence of Chemicals on these Processes. Technical Committee ISO/TC 190/SC 4: *Soil Quality - Biological Methods*.

(6) OECD (1995). Final Report of the OECD Workshop on Selection of Soils/Sediments, Belgirate, Italy, 18-20 January 1995.

(7) ISO 10381-6 (1993). Soil quality - Sampling. Guidance on the collection, handling and storage of soil for the assessment of aerobic microbial processes in the laboratory.

(8) ISO 14240-1 (1997). Soil quality - Determination of soil microbial biomass - Part 1: Substrate-induced respiration method.

(9) ISO 14240-2 (1997). Soil quality - Determination of soil microbial biomass - Part 2: Fumigation-extraction method.

(10) Litchfield, J.T. and Wilcoxon F. (1949). A simplified method of evaluating dose-effect experiments. Jour. Pharmacol. and Exper. Ther., 96, 99-113.

(11) Finney, D.J. (1971). Probit Analysis. 3rd ed., Cambridge, London and New-York.

(12) Finney, D.J. (1978). Statistical Methods in biological Assay. Griffin, Weycombe, UK.

Γ.22. ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΕΔΑΦΟΥΣ: ΔΟΚΙΜΗ ΜΕΤΑΤΡΟΠΗΣ ΑΝΘΡΑΚΑ

1. ΜΕΘΟΔΟΣ

Η παρούσα μέθοδος δοκιμής αποτελεί αναπαραγωγή της OECD TG 217 (2000).

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παρούσα μέθοδος δοκιμής περιγράφει εργαστηριακή μέθοδο προοριζόμενη για τη διερεύνηση των μακροπρόθεσμων δυνητικών επιδράσεων που έχει η εφάπαξ έκθεση προϊόντων προστασίας καλλιεργειών και πιθανόν και άλλων χημικών στην ικανότητα μικροοργανισμών του εδάφους να μετατρέπουν τον άνθρακα. Η δοκιμή αυτή βασίζεται κυρίως στις συστάσεις του Ευρωπαϊκού και Μεσογειακού Οργανισμού Φυτοπροστασίας (1). Ωστόσο, ελήφθησαν υπόψη και άλλες κατευθυντήριες οδηγίες, συμπεριλαμβανομένων και εκείνων των German Biologische Bundesanstalt (2), του Οργανισμού Προστασίας του Περιβάλλοντος των ΗΠΑ (3), και της SETAC (4). Σε συνάντηση εργασίας του ΟΟΣΑ για την επιλογή εδαφών/ιζημάτων, που έγινε στο Belgirate, Ιταλία, το 1995 (5) συμφωνήθηκε ο αριθμός και ο τύπος των προς χρήση εδαφών στην παρούσα δοκιμή. Οι συστάσεις για τη συλλογή, χειρισμό και αποθήκευση των εδαφικών δειγμάτων βασίζονται σε κείμενο οδηγιών του ISO (6) και συστάσεις από τη συνάντηση του Belgirate.

Για την αξιολόγηση και εκτίμηση των τοξικών χαρακτηριστικών υπό δοκιμή ουσιών, μπορεί να απαιτείται προσδιορισμός των επιδράσεων στη μικροβιακή δραστικότητα του εδάφους , π.χ. όταν απαιτούνται στοιχεία για τις δυνητικές παρενέργειες προϊόντων προστασίας καλλιεργειών στη μικροχλωρίδα του εδάφους ή όταν αναμένεται έκθεση μικροοργανισμών του εδάφους σε άλλες χημικές ουσίες εκτός προϊόντων προστασίας καλλιεργειών. Η δοκιμή μετατροπής του άνθρακα πραγματοποιείται για τον προσδιορισμό των επιδράσεων των εν λόγω χημικών στη μικροχλωρίδα του εδάφους. Εφόσον δοκιμάζονται αγροχημικά (π.χ. προϊόντα προστασίας καλλιεργειών, λιπάσματα, δασοκομικά χημικά), πραγματοποιούνται δοκιμές για τη μετατροπή τόσο του αζώτου όσο και του άνθρακα. Εφόσον δεν δοκιμάζονται αγροχημικά, αρκεί η δοκιμή μετατροπής του αζώτου. Ωστόσο, εάν οι τιμές EC_{50} της δοκιμής μετατροπής του αζώτου για τα εν λόγω χημικά είναι στην περιοχή των τιμών που βρίσκονται για διαθέσιμους στο εμπόριο αναστολείς νιτροποίησης (π.χ. νιτραπυρίνη), μπορεί να διεξαχθεί και δοκιμή μετατροπής του άνθρακα για την απόκτηση περαιτέρω πληροφόρησης.

Τα εδάφη συνίστανται από ζώντα και μη ζώντα συστατικά στοιχεία που υφίστανται σε πολύπλοκα και ετερογενή μίγματα. Οι μικροοργανισμοί παίζουν σημαντικό ρόλο στη διάσπαση και μετατροπή οργανικής ύλης σε γόνιμα χώματα με πολλά είδη που συνεισφέρουν σε διάφορες πτυχές της γονιμότητας των εδαφών. Τυχόν μακροπρόθεσμη παρέμβαση σε αυτές τις βιοχημικές διεργασίες μπορεί να έχει δυνητικώς επίδραση στον κύκλο των θρεπτικών αλάτων και να αλλοιωθεί η γονιμότητα του εδάφους. Σε όλα τα γόνιμα εδάφη επέρχεται μετατροπή του αζώτου και του άνθρακα. Αν και οι μικροβιακές κοινότητες που είναι υπεύθυνες για τις διεργασίες αυτές διαφέρουν από έδαφος σε έδαφος, οι οδοί μετατροπής είναι ουσιαστικώς οι ίδιες.

Η περιγραφόμενη παρούσα μέθοδος δοκιμής προορίζεται για την ανίχνευση μακροπρόθεσμων δυσμενών επιδράσεων μιας ουσίας στη διεργασία μετατροπής του άνθρακα σε αερόβια επιφανειακά εδάφη. Η δοκιμή είναι ευαίσθητη σε μεταβολές μεγέθους και δραστικότητας των μικροβιακών κοινοτήτων που είναι υπεύθυνες για τη μετατροπή του άνθρακα δεδομένου ότι κατά τη δοκιμή οι κοινότητες αυτές υποβάλλονται τόσο σε χημική καταπόνηση όσο και σε στέρηση άνθρακα. Χρησιμοποιείται αμμώδες έδαφος χαμηλής περιεκτικότητας σε οργανική ύλη. Το έδαφος αυτό υποβάλλεται σε κατεργασία με την υπό δοκιμή ουσία και επωάζεται υπό συνθήκες που επιτρέπουν ταχύ μικροβιακό μεταβολισμό. Υπό τις συνθήκες αυτές, οι πηγές ευκόλως διαθέσιμου άνθρακα στο έδαφος εξαντλούνται με ταχύ ρυθμό. Αυτό προκαλεί έλλειψη άνθρακα με αποτέλεσμα τη θανάτωση των μικροβιακών κυττάρων και την εμφάνιση λανθάνουσας κατάστασης και/ή δημιουργία σπορίων. Εάν η δοκιμή διαρκέσει για πάνω από 28 ημέρες, ο συνδυασμός των αντιδράσεων αυτών μπορεί να μετρηθεί σε (ακατέργαστο έδαφος) μάρτυρες ως προοδευτική απώλεια μεταβολικώς ενεργού μικροβιακής βιομάζας (7). Εάν βιομάζα εδαφών που αντιμετωπίζουν στερητικά φαινόμενα από πλευράς άνθρακα, υπό τις συνθήκες της δοκιμής, επηρεαστεί από την παρουσία χημικής ουσίας, μπορεί να μην επιστρέψει στα ίδια επίπεδα με εκείνα του μάρτυρα. Έτσι, διαταραχές που προκαλούνται από την υπό δοκιμή ουσία ανά πάσα στιγμή κατά την διάρκεια της δοκιμής διαρκούν συχνά μέχρι το τέλος της δοκιμής.

Οι δοκιμές από τις οποίες αναπτύχθηκε η παρούσα μέθοδος δοκιμής είχαν αρχικά σχεδιαστεί για ουσίες για τις οποίες μπορεί να προβλεφθεί η ποσότητα που φθάνει στο έδαφος. Αυτό ισχύει, π.χ., στην περίπτωση προϊόντων προστασίας καλλιεργειών για τα οποία είναι γνωστό το ποσοστό χρήσης στα εδάφη. Για τα αγροχημικά, αρκεί η δοκιμή δύο δόσεων σχετικών με το προαναμενόμενο ή προβλεπόμενο ποσοστό χρήσης. Τα αγροχημικά μπορούν να δοκιμαστούν ως δραστικά συστατικά (δ.σ.) ή ως τυποποιημένης συνθέσεως προϊόντα. Ωστόσο, η δοκιμή δεν περιορίζεται σε χημικά με προβλέψιμες περιβαλλοντικές συγκεντρώσεις. Αλλάζοντας τόσο τις ποσότητες της εφαρμοζόμενης στο έδαφος υπό δοκιμή ουσίας, όσο και τον τρόπο με τον οποίο αξιολογούνται τα δεδομένα, η δοκιμή μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για χημικά για τα οποία δεν είναι γνωστή η αναμενόμενη να φθάσει στο έδαφος ποσότητα.. Έτσι, στην περίπτωση χημικών που δεν εμπίπτουν στην κατηγορία των αγροχημικών, προσδιορίζονται οι επιδράσεις μιας σειράς συγκεντρώσεων στην μετατροπή του άνθρακα. Τα στοιχεία από τις δοκιμές αυτές χρησιμοποιούνται για τη χάραξη καμπύλης δόσεως-απόκρισης και τον υπολογισμό τιμών EC_x, όπου το x ορίζεται ως η % επίδραση.

1.2 ΟΡΙΣΜΟΙ

Μετατροπή άνθρακα: είναι η αποικοδόμηση από μικροοργανισμούς οργανικής ύλης για το σχηματισμό διοξειδίου του άνθρακα ως τελικού ανόργανου προϊόντος.

EC_x (δραστική συγκέντρωση x): είναι η συγκέντρωση της υπό δοκιμή ουσίας στο έδαφος, η οποία απολήγει σε x % αναστολή της μετατροπής του άνθρακα σε διοξείδιο του άνθρακα.

EC_{50} (διάμεση δραστική συγκέντρωση): είναι η συγκέντρωση της υπό δοκιμή ουσίας στο έδαφος, η οποία απολήγει σε 50 % αναστολή της μετατροπής άνθρακα σε διοξείδιο του άνθρακα.

1.3 ΟΥΣΙΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Καμμία.

1.4 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΗΣ

Κοσκινισμένο χώμα υποβάλλεται σε κατεργασία με την υπό δοκιμή ουσία ή αφήνεται ακατέργαστο (μάρτυρας). Εάν δοκιμάζονται αγροχημικά, συνιστώνται δύο κατ' ελάχιστο συγκεντρώσεις δοκιμής που θα πρέπει να επιλέγονται ανάλογα με την υψηλότερη αναμενόμενη επιτόπια συγκέντρωση. Μετά 0, 7, 14 και 28 ημέρες επώασης, δείγματα κατεργασμένου και μη κατεργασμένου (μάρτυρας) εδάφους αναμειγνύονται με γλυκόζη και για 12 διαδοχικές ώρες μετρώνται οι επαγόμενοι από τη γλυκόζη ρυθμοί αναπνοής. Οι ρυθμοί αναπνοής εκφράζονται ως απελευθερούμενο διοξείδιο του άνθρακα (mg διοξειδίου του άνθρακα/kg ξηρού εδάφους/h) ή ως καταναλισκόμενο οξυγόνο (mg οξυγόνου/kg εδάφους/h). Ο μέσος ρυθμός αναπνοής στα κατεργασμένα εδαφικά δείγματα συγκρίνεται με εκείνον του μάρτυρα και υπολογίζεται η % απόκλιση του κατεργασμένου από το μάρτυρα. Όλες οι δοκιμές διαρκούν τουλάχιστον 28 ημέρες. Εάν, την 28η ημέρα, οι διαφορές μεταξύ κατεργασμένων και μη κατεργασμένων εδαφών είναι ίσες ή μεγαλύτερες του 25%, οι μετρήσεις συνεχίζονται σε διαστήματα 14 ημερών μέχρι 100 ημέρες το πολύ. Εάν οι υπό δοκιμή ουσίες δεν ανήκουν στα αγροχημικά, στα δείγματα του εδάφους προστίθεται μια σειρά συγκεντρώσεων της υπό δοκιμή ουσίας και μετά 28 ημέρες μετρώνται οι προκαλούμενοι από τη γλυκόζη ρυθμοί αναπνοής (δηλ. ο μέσος όρος των σχηματιζομένων ποσοτήτων διοξειδίου του άνθρακα ή των καταναλισκομένων ποσοτήτων οξυγόνου). Τα αποτελέσματα από τις δοκιμές με τη σειρά συγκεντρώσεων αναλύονται χρησιμοποιώντας ένα μοντέλο αναγωγής και υπολογίζονται οι τιμές EC_x (δη. EC_{50}, EC_{25} και/ή EC_{10}). Βλ. ορισμούς.

1.5 ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Οι αξιολογήσεις των αποτελεσμάτων των δοκιμών με αγροχημικά βασίζονται σε σχετικώς μικρές διαφορές (δηλ. μέση τιμή ±25%) μεταξύ του απελευθερούμενου διοξειδίου του άνθρακα ή του καταναλισκόμενου οξυγόνου, στα (ή από) τα κατεργασμένα εδαφικά δείγματα ή δείγματα-μάρτυρες, έτσι τυχόν μεγάλες διακυμάνσεις στους μάρτυρες μπορεί να οδηγήσουν σε εσφαλμένα αποτελέσματα. Συνεπώς, η διακύμανση μεταξύ επαναληπτικών δειγμάτων-μαρτύρων θα πρέπει να είναι μικρότερη του ±15%.

1.6 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΗΣ

1.6.1 **Εξοπλισμός**

Χρησιμοποιούνται δοχεία δοκιμής κατασκευασμένα από χημικώς αδρανές υλικό. Τα δοχεία θα πρέπει να είναι κατάλληλης χωρητικότητας ανάλογα με τη χρησιμοποιούμενη διαδικασία για την επώαση των εδαφών, δηλ. επώαση σε χύδην κατάσταση ή ως σειρά επιμέρους δειγμάτων εδάφους (βλ. ενότητα 1.7.1.2). Θα πρέπει να λαμβάνεται πρόνοια τόσο για την ελαχιστοποίηση της απώλειας νερού όσο και για την παροχή δυνατότητας ανταλλαγής αερίων (π.χ. τα δοχεία δοκιμής μπορούν να καλύπτονται με διάτρητο φύλλο πολυαιθυλενίου). Όταν δοκιμάζονται πτητικές ουσίες, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται σφραγιζόμενα και αεροστεγή δοχεία. Τα δοχεία θα πρέπει να είναι κατάλληλου μεγέθους ώστε με το εδαφικό δείγμα να πληρούται το ένα τέταρτο περίπου του όγκου τους.

Για τον προσδιορισμό της προκαλούμενης από τη γλυκόζη αναπνοής, απαιτούνται συστήματα επωάσεων και όργανα για τη μέτρηση της παραγωγής διοξειδίου του άνθρακα ή κατανάλωσης οξυγόνου. Παραδείγματα τέτοιων συστημάτων και οργάνων ανευρίσκονται στη βιβλιογραφία (8) (9) (10) (11).

1.6.2 **Επιλογή και αριθμός εδαφών**

Χρησιμοποιείται ένα μοναδικό έδαφος. Τα συνιστώμενα εδαφικά χαρακτηριστικά είναι τα εξής:

— περιεκτικότητα σε άμμο: τουλάχιστον 50% μέχρι το πολύ 75%

— pH: 5.5 - 7.5;

— περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα: 0.5 - 1.5%;

— θα πρέπει να μετριέται η μικροβιακή βιομάζα (12)(13) και η περιεκτικότητά της σε άνθρακα θα πρέπει να είναι τουλάχιστον 1% του συνόλου του οργανικού άνθρακα του εδάφους.

Στις περισσότερες περιπτώσεις, έδαφος με τα χαρακτηριστικά αυτά αντιπροσωπεύει τη χειρότερη περίπτωση, αφού η προσρόφηση του υπό δοκιμή χημικού είναι ελάχιστη και η διαθεσιμότητά του στη μικροχλωρίδα μέγιστη. Συνεπώς, δεν χρειάζονται εν γένει δοκιμές με άλλα εδάφη. Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις, π.χ. όταν η προβλεπόμενη κύρια χρήση της υπό δοκιμή ουσίας είναι για συγκεκριμένα εδάφη, όπως όξινα εδάφη δασών, ή στην περίπτωση ηλεκτροστατικώς φορτισμένων χημικών, μπορεί να χρειάζεται να χρησιμοποιηθεί και κάποιο άλλο ακόμη έδαφος.

1.6.3 **Συλλογή και αποθήκευση δειγμάτων εδαφών**

1.6.3.1 *Συλλογή*

Θα πρέπει να υπάρχουν διαθέσιμες λεπτομερείς πληροφορίες για το ιστορικό του συγκεκριμένου τόπου από τον οποίο συλλέγεται το προς δοκιμή δείγμα. Στα στοιχεία πρέπει να περιλαμβάνονται η ακριβής τοποθεσία, η υπάρχουσα βλάστηση, οι ημερομηνίες κατεργασίας με προϊόντα προστασίας καλλιεργειών, κατεργασίες με οργανικά και ανόργανα λιπάσματα, προσθήκες βιολογικών υλικών ή τυχαίες επιμολύνσεις. Ο επιλεγμένος τόπος για τη συλλογή εδάφους θα πρέπει να επιτρέπει τη μακροπρόθεσμη χρήση. Κατάλληλοι προς τούτο είναι μόνιμα βοσκοτόπια, αγροί με ετήσιες καλλιέργειες δημητριακών (εκτός αραβοσίτου) ή πυκνοσπαρμένοι με χλωρό λίπασμα. Ο επιλεγμένος τόπος δειγματοληψίας δεν θα πρέπει να έχει υποβληθεί σε κατεργασία με προϊόντα προστασίας καλλιεργειών για ένα τουλάχιστον χρόνο πριν από τη δειγματοληψία. Επίσης, για έξι μήνες τουλάχιστον δεν θα πρέπει να έχει χρησιμοποιηθεί οργανικό λίπασμα. Η χρήση ανόργανου λιπάσματος είναι αποδεκτή μόνον όταν είναι σύμφωνη με τις απαιτήσεις της καλλιέργειας και δεν θα πρέπει να λαμβάνονται δείγματα εδάφους παρά μόνον τρεις μήνες τουλάχιστον μετά από τη χρήση του λιπάσματος. Θα πρέπει να αποφεύγεται η χρήση εδάφους κατεργασμένου με λιπάσματα με γνωστές βιοκτόνες επιδράσεις (π.χ. κυαναμίδιο ασβεστίου).

Θα πρέπει να αποφεύγεται δειγματοληψία κατά τη διάρκεια ή αμέσως μετά μακρές περιόδους (μεγαλύτερες των 30 ημερών) ξηρασίας ή κατάκλυσης με νερό. Για οργωμένα εδάφη, τα δείγματα θα πρέπει να λαμβάνονται από βάθος 0 έως 20 cm. Για χορτολιβαδικές εκτάσεις (βοσκές) ή άλλα εδάφη τα οποία δεν οργώνονται για μακρότερες περιόδους (τουλάχιστον μία καλλιεργητική περίοδος), το μέγιστο βάθος δειγματοληψίας μπορεί να είναι ελαφρώς μεγαλύτερο από 20 cm (π.χ. έως 25 cm). Τα δείγματα εδάφους θα πρέπει να μεταφέρονται χρησιμοποιώντας δοχεία και κάτω από συνθήκες θερμοκρασίας που να εγγυώνται ότι δεν υπάρχει περίπτωση σημαντικής μεταβολής των αρχικών ιδιοτήτων του εδάφους.

1.6.3.2 *Αποθήκευση*

Προτιμάται η χρήση εδαφών προσφάτως συλλεγέντων από την τοποθεσία συλλογής. Εάν δεν μπορεί να αποφευχθεί η αποθήκευση στο εργαστήριο, τα εδάφη μπορούν να αποθηκεύονται στο σκοτάδι στους 4±2°C για τρεις μήνες κατ' ανώτατο όριο. Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης των εδαφών, πρέπει να διασφαλίζεται η ύπαρξη αερόβιων συνθηκών. Εάν τα εδάφη συλλέγονται από περιοχές όπου είναι κατεψυγμένα για τρεις μήνες τουλάχιστον το χρόνο, μπορεί να εξεταστεί και η αποθήκευση για έξι μηνες στους -18°C. Πριν από κάθε πείραμα μετριέται η μικροβιακή βιομάζα των αποθηκευμένων εδαφών, ο άνθρακας δε στη βιομάζα θα πρέπει να είναι τουλάχιστον 1% του συνολικώς περιεχομένου στο έδαφος οργανικού άνθρακα (βλ. ενότητα 1.6.2).

1.6.4 **Χειρισμός και προετοιμασία των εδαφών για τη δοκιμή**

1.6.4.1 *Προεπώαση*

Εφόσον το έδαφος αποθηκεύτηκε (βλ. ενότητες 1.6.4.2 και 1.7.1.3), συνιστάται προεπώαση για μια περίοδο μεταξύ 2 και 28 ημερών. Η θερμοκρασία και υγρασία του εδάφους κατά τη διάρκεια της προεπώασης θα πρέπει να είναι παρόμοιες με τις χρησιμοποιούμενες στη δοκιμή (βλ. ενότητες 1.6.4.2 και 1.7.1.3).

1.6.4.2 *Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά*

Το έδαφος καθαρίζεται με το χέρι από τυχόν ενυπάρχοντα μεγάλα αντικείμενα (π.χ. πέτρες, μέρη φυτών, κλπ) και κατόπιν κοσκινίζεται εν υγρώ χωρίς υπερβολική ξήρανση για λήψη σωματιδίων μεγέθους μέχρι το πολύ 2 mm. Η υγρασία του δείγματος εδάφους θα πρέπει να ρυθμίζεται με αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό σε τιμή μεταξύ 40 και 60% της μέγιστης ικανότητας για συγκράτηση νερού.

1.6.5 **Προετοιμασία της υπό δοκιμή ουσίας για εφαρμογή στο έδαφος**

Η υπό δοκιμή ουσία εφαρμόζεται κυρίως χρησιμοποιώντας κάποιον φορέα. Ο φορέας μπορεί να είναι νερό (για υδατοδιαλυτές ουσίες) ή αδρανές στερεό όπως λεπτή χαλαζιακή άμμος (μέγεθος σωματιδίων: 0.1-0.5mm). Άλλοι υγροί φορείς (π.χ. οργανικοί διαλύτες όπως ακετόνη, χλωροφόρμιο) εκτός νερού θα πρέπει να αποφεύγονται επειδή μπορεί να καταστρέψουν τη μικροχλωρίδα. Εφόσον ως φορέας χρησιμοποιείται άμμος, αυτή μπορεί να επιχρίεται με την υπό δοκιμή ουσία διαλελυμένη ή εναιωρούμενη σε κατάλληλο διαλύτη. Στις περιπτώσεις αυτές, ο διαλύτης θα πρέπει να απομακρύνεται με εξάτμιση πριν από την ανάμειξη με το έδαφος. Για άριστη κατανομή της υπό δοκιμή ουσίας στο έδαφος, συνιστάται μια σχέση 10 g άμμου ανά χιλιόγραμμο εδάφους (ξηρού βάρους). Τα δείγματα-μάρτυρες υποβάλλονται σε κατεργασία με ισοδύναμη ποσότητα νερού και/ή χαλαζιακής άμμου μόνον.

Όταν δοκιμάζονται πτητικά χημικά, θα πρέπει να αποφεύγονται κατά το δυνατόν απώλειες κατά την κατεργασία και να γίνεται προσπάθεια για τη διασφάλιση ομοιογενούς κατανομής στο έδαφος (π.χ. η υπό δοκιμή ουσία θα πρέπει να εγχύεται στο έδαφος σε διάφορα σημεία).

1.6.6 **Συγκεντρώσεις δοκιμής**

Όταν δοκιμάζονται προϊόντα προστασίας καλλιεργειών ή άλλα χημικά με προβλέψιμες περιβαλλοντικές συγκεντρώσεις, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται τουλάχιστον δύο συγκεντρώσεις Η μικρότερη συγκέντρωση θα πρέπει να αντιπροσωπεύει τουλάχιστον τη μέγιστη ποσότητα που αναμένεται να φθάσει στο έδαφος υπό συνθήκες συναντώμενες στην πράξη ενώ η μεγαλύτερη συγκέντρωση θα πρέπει να είναι πολλαπλάσια της μικρότερης συγκέντρωσης. Οι συγκεντρώσεις της προστιθέμενης στο έδαφος υπό δοκιμή ουσίας υπολογίζονται υποθέτοντας ομοιόμορφη ενσωμάτωση μέχρι βάθους 5 cm και φαινόμενη πυκνότητα εδάφους 1.5. Για αγροχημικά που εφαρμόζονται απευθείας στο έδαφος, ή για χημικά για τα οποία μπορεί να προβλεφθεί η ποσότητα που φθάνει στο έδαφος, οι συνιστώμενες συγκεντρώσεις δοκιμής είναι η μέγιστη Προβλεπόμενη Περιβαλλοντική Συγκέντρωση (ΠΠΣ) και το πενταπλάσιο αυτής της συγκέντρωσης. Ουσίες που αναμένεται να εφαρμοστούν σε εδάφη αρκετές φορές σε μια καλλιεργητική περίοδο θα πρέπει να δοκιμάζονται σε συγκεντρώσεις προκύπτουσες από τον πολλαπλασιασμό της ΠΠΣ επί το μέγιστο αναμενόμενο αριθμό εφαρμογών. Η μεγαλύτερη, ωστόσο, συγκέντρωση δοκιμής δεν θα πρέπει να υπερβαίνει το δεκαπλάσιο του μέγιστου εφάπαξ ποσοστού εφαρμογής.

Εάν δοκιμάζονται μη αγροχημικά, χρησιμοποιείται γεωμετρική σειρά πέντε τουλάχιστον συγκεντρώσεων. Οι συγκεντρώσεις δοκιμής θα πρέπει να καλύπτουν το εύρος που απαιτείται για τον προσδιορισμό των τιμών EC_x.

1.7 ΕΚΤΕΛΕΣΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

1.7.1 **Συνθήκες έκθεσης**

1.7.1.1 *Κατεργασία και έλεγχος*

Εάν δοκιμάζονται αγροχημικά, το εδαφικό δείγμα διαιρείται σε τρία τμήματα ίσου βάρους. Δύο τμήματα αναμειγνύονται με το φορέα που περιέχει το προϊόν, ενώ το άλλο αναμειγνύεται με το φορέα χωρίς το προϊόν (μάρτυρας). Τόσο για τα κατεργασμένα όσο και για τα ακατέργαστα εδάφη συνιστάται η παρασκευή τουλάχιστον τριών επαναληπτικών δειγμάτων. Εάν δοκιμάζονται μη αγροχημικά, το εδαφικό δείγμα χωρίζεται σε έξι τμήματα ίσου βάρους. Πέντε από τα δείγματα αναμειγνύονται με τον φορέα που περιέχει την υπό δοκιμή ουσία, ενώ το έκτο δείγμα αναμειγνύεται με τον φορέα χωρίς το χημικό. Τόσο για τα κατεργασμένα, όσο και για τους μάρτυρες, συνιστάται η παρασκευή τριών επαναληπτικών δειγμάτων. Θα πρέπει να δίδεται προσοχή ώστε να διασφαλίζεται η ομοιογενής κατανομή της υπό δοκιμή ουσίας στα κατεργασμένα εδαφικά δείγματα. Κατά τη διάρκεια της ανάμειξης, θα πρέπει να αποφεύγεται το έδαφος να λαμβάνει συμπαγή μορφή ή μορφή σβώλων.

1.7.1.2 *Επώαση των εδαφικών δειγμάτων*

Η επώαση των εδαφικών δειγμάτων μπορεί να γίνεται με δύο τρόπους: ως χύδην δείγματα κάθε κατεργασμένου και μη κατεργασμένου εδάφους ή ως σειρά επιμέρους και ταυτόσημου μεγέθους μερικών δειγμάτων κάθε κατεργασμένου και μη κατεργασμένου εδάφους. Ωστόσο, όταν δοκιμάζονται πτητικές ουσίες, η δοκιμή θα πρέπει να γίνεται μόνον μια σειρά επιμέρους μερικών δειγμάτων. Όταν τα εδάφη επωάζονται χύδην, προετοιμάζονται μεγάλες ποσότητες κάθε κατεργασμένου και μη εδάφους και τα προς ανάλυση μερικά δείγματα λαμβάνονται όπως απαιτείται κατά τη διάρκεια της δοκιμής. Η αρχικώς προετοιμαζόμενη ποσότητα για κάθε κατεργασία και μαρτυρία εξαρτάται από το μέγεθος των μερικών δειγμάτων, τον αριθμό των επαναληπτικών δειγμάτων που χρησιμοποιούνται για ανάλυση και τον αναμενόμενο μέγιστο αριθμό χρόνων δειγματοληψίας. Τα χύδην επωαζόμενα εδάφη θα πρέπει να αναμειγνύονται επισταμένως πριν από τη λήψη των μερικών δειγμάτων. Όταν τα εδάφη επωάζονται ως σειρά επιμέρους εδαφικών δειγμάτων, κάθε χύδην κατεργασμένο και μη έδαφος διαιρείται στον απαιτούμενο αριθμό μερικών δειγμάτων και τα τελευταία χρησιμοποιούνται όπως απαιτείται. Σε δοκιμές όπου μπορούν να αναμένονται περισσότεροι των δύο χρόνοι δειγματοληψίας, θα πρέπει να παρασκευάζεται ικανός αριθμός μερικών δειγμάτων ώστε να καλύπτονται, από πλευράς αριθμού, το σύνολο των επαναληπτικών δειγμάτων και των χρόνων δειγματισμού. Θα πρέπει να επωάζονται τουλάχιστον τρία επαναληπτικά δείγματα του υπό δοκιμή εδάφους υπό αερόβιες συνθήκες (βλ. ενότητα 1.7.1.1). Κατά τη διάρκεια όλων των δοκιμών, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται δοχεία με επαρκή κενό χώρο άνωθεν για να αποφεύγεται η ανάπτυξη αναερόβιων συνθηκών. Όταν δοκιμάζονται πτητικές ουσίες, η δοκιμή θα πρέπει να εκτελείται μόνον με μια σειρά επιμέρους μερικών δειγμάτων.

1.7.1.3 *Συνθήκες και διάρκεια δοκιμής*

Η δοκιμή εκτελείται στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου 20±2°C. Η υγρασία των εδαφικών δειγμάτων θα πρέπει να διατηρείται κατά τη διάρκεια της δοκιμής μεταξύ 40% και 60% της μέγιστης ικανότητας συγκράτησης νερού του εδάφους (βλ. ενότητα 1.6.4.2) με διακύμανση ±5%. Εφόσον χρειάζεται, μπορεί να προστεθεί απεσταγμένο, απιονισμένο νερό.

Η ελάχιστη διάρκεια των δοκιμών είναι 28 ημέρες. Εάν δοκιμάζονται αγροχημικά, συγκρίνονται οι ποσότητες του απελευθερούμενου διοξειδίου του άνθρακα ή καταναλισκόμενου οξυγόνου στα κατεργασμένα και στα δείγματα μάρτυρες. Εάν την 28η ημέρα διαφέρουν κατά ποσοστό άνω του 25%, η δοκιμή συνεχίζεται μέχρις ότου ληφθεί διαφορά ίση ή μικρότερη του 25%, ή για μέγιστο χρονικό διάστημα 100 ημερών, ανάλογα με το ποιο επιτυγχάνεται συντομότερα. Για μη αγροχημικά, η δοκιμή τερματίζεται μετά 28 ημέρες. Την 28η ημέρα, προσδιορίζονται οι ποσότητες του απελευθερούμενου διοξειδίου του άνθρακα ή του καταναλισκόμενου οξυγόνου στα κατεργασμένα και στα δείγματα μάρτυρες και υπολογίζονται οι τιμές EC_x.

1.7.2 **Δειγματοληψία και ανάλυση εδαφών**

1.7.2.1 *Χρονογιάγραμμα δειγματοληψίας εδαφών*

Εάν δοκιμάζονται αγροχημικά, τα εδαφικά δείγματα υποβάλλονται σε ανάλυση προσδιορισμού ρυθμού αναπνοής προκαλούμενης από γλυκόζη κατά τις ημέρες 0, 7, 14 και 28. Εάν απαιτείται παρατεταμένη δοκιμή, θα πρέπει να γίνονται περαιτέρω μετρήσεις σε διαστήματα 14 ημερών μετά την 28η ημέρα.

Εάν δοκιμάζονται μη αγροχημικά, χρησιμοποιούνται τουλάχιστον πέντε συγκεντρώσεις δοκιμής και τα εδαφικά δείγματα αναλύονται για τον προσδιορισμό της προκαλούμενης από τη γλυκόζη αναπνοής στην αρχή (ημέρα 0)

και στο τέλος της περιόδου έκθεσης (28 ημέρες). Εφόσον κριθεί αναγκαίο, μπορεί να προστεθεί και μια ενδιάμεση μέτρηση, π.χ. την 7η ημέρα. Τα δεδομένα της 28ης ημέρας χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της τιμής EC_x του χημικού. Εφόσον επιθυμείται, για την εκτίμηση των αρχικών ποσοτήτων της μεταβολικώς ενεργού μικροβιακής βιομάζας στο έδαφος, μπορούν να χρησιμοποιηθούν δεδομένα από τα δείγματα-μάρτυρες της ημέρας 0 (12).

1.7.2.2 *Μέτρηση ρυθμών αναπνοής προκαλούμενης από τη γλυκόζη*

Σε κάθε χρονικό σημείο δειγματιγμού, προσδιορίζεται ο επαγόμενος από τη γλυκόζη ρυθμός αναπνοής σε κάθε επαναληπτικό κατεργασμένο δείγμα και δείγμα-μάρτυρα. Τα εδαφικά δείγματα αναμειγνύονται με επαρκή ποσότητα γλυκόζης για την επίτευξη της άμεσης μέγιστης αναπνευστικής απόκρισης. Η ποσότητα γλυκόζης που χρειάζεται για την επίτευξη μέγιστης αναπνευστικής απόκρισης από δεδομένο έδαφος μπορεί να προσδιοριστεί σε προκαταρκτική δοκιμή χρησιμοποιώντας μια σειρά συγκεντρώσεων γλυκόζης (14). Ωστόσο, σε αμμώδη εδάφη με 0,5-1,5% οργανικό άνθρακα, αρκεί συνήθως μια ποσότητα 2000 mg έως 4000 mg γλυκόζης ανά kg ξηρού βάρους εδάφους. Η γλυκόζη μπορεί να αλεστεί σε σκόνη με καθαρή χαλαζιακή άμμο (10 g άμμου/kg ξηρού βάρους εδάφους) και να αναμειχθεί ομοιογενώς με το έδαφος.

Τα τροποποιημένα με γλυκόζη εδαφικά δείγματα επωάζονται σε κατάλληλη συσκευή για τη μέτρηση ρυθμών αναπνοής είτε συνεχώς, κάθε ώρα, ή κάθε δύο ώρες (βλ. ενότητα 1.6.1) στους 20 ± 2 °C. Μετράται για 12 συνεχείς ώρες το απελευθερούμενο διοξείδιο του άνθρακα ή το καταναλισκόμενο οξυγόνο, οι δε μετρήσεις θα πρέπει να ξεκινούν όσο το δυνατόν συντομότερα, δηλ. μέσα σε 1 έως 2 ώρες από την προσθήκη της γλυκόζης. Μετριώνται οι συνολικές ποσότητες του απελευθερούμενου διοξειδίου του άνθρακα ή του καταναλισκόμενου οξυγόνου κατά τη διάρκεια των 12 ωρών και προσδιορίζονται οι μέσοι ρυθμοί αναπνοής.

2 ΔΕΔΟΜΕΝΑ

2.1 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Εάν διεξάγονται δοκιμές με αγροχημικά, θα πρέπει να καταγράφεται το απελευθερούμενο διοξείδιο του άνθρακα ή το καταναλισκόμενο οξυγόνο από κάθε επαναληπτικό δείγμα εδάφους και να παρατίθενται σε πίνακα οι μέσες τιμές όλων των επαναληπτικών δειγμάτων. Τα αποτελέσματα θα πρέπει να αξιολογούνται με κατάλληλες και γενικά αποδεκτές στατιστικές μεθόδους (π.χ. F-δοκιμή, 5% επίπεδο σημαντικότητας). Οι ρυθμοί της επαγόμενης από γλυκόζη αναπνοής εκφράζονται mg διοξειδίου του άνθρακα/kg ξηρού εδάφους/h ή mg οξυγόνου/kg ξηρού βάρους εδάφους/h. Ο μέσος ρυθμός σχηματισμού διοξειδίου του άνθρακα ή ο μέσος ρυθμός κατανάλωσης οξυγόνου σε κάθε κατεργασία συγκρίνεται με εκείνον του μάρτυρα και υπολογίζεται η % απόκλιση από τον μάρτυρα.

Εάν πραγματοποιούνται δοκιμές με μη αγροχημικά, προσδιορίζονται οι ποσότητες του απελευθερούμενου διοξειδίου του άνθρακα ή του καταναλισκόμενου οξυγόνου σε κάθε επαναληπτικό δείγμα και χαράσσεται καμπύλη δόσης-απόκρισης για υπολογισμό των τιμών EC_x. Οι ανευρισκόμενοι ρυθμοί επαγόμενης από γλυκόζη αναπνοής (δηλ. mg διοξειδίου του άνθρακα/kg ξηρού βάρους εδάφους/h ή mg οξυγόνου/kg ξηρού βάρους δάφους/h) στα κατεργασμένα δείγματα μετά 28 ημέρες συγκρίνονται με τους ανευρισκόμενους στο μάρτυρα. Από τα στοιχεία αυτά, υπολογίζονται οι % τιμές αναστολής για κάθε συγκέντρωση δοκιμής. Τα ποσοστά αυτά καταγράφονται γραφικώς συναρτήσει της συγκεντρώσεως και στη συνέχεια χρησιμοποιούνται στατιστικές διαδικασίες για τον υπολογισμό των τιμών EC_x. Προσδιορίζονται επίσης όρια εμπιστοσύνης ($p = 0.95$) για τις υπολογιζόμενες τιμές EC_x χρησιμοποιώντας τυποποιημένες διαδικασίες (15)(16)(17).

2.2 ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Όταν υπολογίζονται αποτελέσματα από δοκιμές με αγροχημικά και η διαφορά στους ρυθμούς αναπνοής μεταξύ της με χαμηλότερο ποσοστό κατεργασίας (δηλ. της μέγιστης προβλεπόμενης συγκέντρωσης) και μάρτυρα είναι ίση ή μικρότερη του 25% σε οποιοδήποτε χρόνο δειγματοληψίας μετά την 28η ημέρα, το προϊόν μπορεί να αξιολογηθεί ως μη έχον μακροπρόθεσμη επίδραση στη μετατροπή του άνθρακα στα εδάφη. Όταν αξιολογούνται αποτελέσματα από δοκιμές με χημικά άλλα εκτός των αγροχημικών, χρησιμοποιούνται οι τιμές EC_{50}, EC_{25} και/ή EC_{10}.

3 ΈΚΘΕΣΗ

3.1 ΕΚΘΕΣΗ ΔΟΚΙΜΗΣ

Η έκθεση δοκιμής πρέπει να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:

Πλήρη ταυτοποίηση του χρησιμοποιηθέντος εδάφους, συμπεριλαμβανομένων των εξής:

— γεωγραφικό στίγμα του τόπου (γεωγραφικό πλάτος και μήκος)
— πληροφορίες για το ιστορικό του τόπου (δηλ. κάλυψη από βλάστηση, κατεργασίες με προϊόντα προστασίας καλλιεργειών, κατεργασίες με λιπάσματα, τυχαία επιμόλυνση, κλπ)
— πρότυπο χρήσης (π.χ. γεωργικό έδαφος, δάσος, κλπ.)
— βάθος δειγματοληψίας (cm);
— περιεκτικότητα σε άμμο/ιλύ/άργιλο (% επί ξηρού βάρους)
— pH (στο νερό)
— περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα (% επί ξηρού βάρους)
— περιεκτικότητα σε άζωτο (% επί ξηρού βάρους)
— κατιοανταλλακτική ικανότητα (mmol/kg)
— αρχική μικροβιακή βιομάζα ως ποσοστό του συνολικού οργανικού άνθρακα
— αναφορά των χρησιμοποιηθεισών μεθόδων για τον προσδιορισμό κάθε παραμέτρου
— κάθε πληροφορία σχετικά με τη συλλογή και αποθήκευση εδαφικών δειγμάτων
— λεπτομέρειες για την προεπώαση του εδάφους, εφόσον συντρέχει

Υπό δοκιμή ουσία:

— φυσική κατάσταση της ουσίας και, όπου χρειάζεται, φυσικοχημικές ιδιότητες
— δεδομένα χημικής ταυτοποίησης, όπου χρειάζεται, συμπεριλαμβανομένου του χημικού τύπου, της καθαρότητας (δηλ. για προϊόντα προστασίας καλλιεργειών, το ποσοστό του δραστικού συστατικού), περιεκτικότητα σε άζωτο..

Συνθήκες δοκιμής:

— λεπτομέρειες της τροποποίησης του εδάφους με οργανικό υπόστρωμα,
— αριθμός χρησιμοποιηθεισών συγκεντρώσεων του υπό δοκιμή χημικού και, όπου κρίνεται σκόπιμο, αιτιολόγηση των επιλεγεισών συγκεντρώσεων,
— λεπτομέρειες για την εφαρμογή της υπό δοκιμή ουσίας στο έδαφος,
— θερμοκρασία επώασης,
— υγρασία εδάφους στη αρχή και κατά τη διάρκεια της δοκιμής,
— χρησιμοποιηθείσα μέθοδος επώασης εδάφους (δηλ. χύδην ή ως σειρά επιμέρους μερικών δειγμάτων),
— αριθμός επαναληπτικών δειγμάτων,
— χρόνοι δειγματοληψίας.

Αποτελέσματα:

— χρησιμοποιηθείσα μέθοδος και εξοπλισμός για τη μέτρηση των ρυθμών αναπνοής
— δεδομένα σε μορφή πίνακα, συμπεριλαμβανομένων μεμονωμένων και μέσων τιμών ποσοτήτων διοξειδίου του άνθρακα ή οξυγόνου
— διακύμανση μεταξύ των επαναληπτικών δειγμάτων σε κατεργασμένα δείγματα και σε δείγματα μάρτυρες
— εξηγήσεις διορθώσεων που έγιναν στους υπολογισμούς, εφόσον συντρέχει περίπτωση
— η % διακύμανση των επαγόμενων από τη γλυκόζη ρυθμών αναπνοής σε κάθε χρόνο δειγματοληψίας ή, εάν κρίνεται σκόπιμο, η τιμή EC_{50} με 95% όριο εμπιστοσύνης, άλλες τιμές EC_x (π.χ. EC_{25} ή EC_{10}) με διαστήματα εμπιστοσύνης και ένα γράφημα της καμπύλης δόσης-απόκρισης

— στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων, όπου χρειάζεται

— κάθε πληροφορία και παρατήρηση χρήσιμη για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

4 **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

(1) EPPO (1994). Decision-Making Scheme for the Environmental Risk Assessment of Plant Protection Chemicals. Chapter 7: Soil Microflora. EPPO Bulletin 24: 1-16, 1994.

(2) BBA (1990). Effects on the Activity of the Soil Microflora. BBA Guidelines for the Official Testing of Plant Protection Products, VI, 1-1 (2nd eds., 1990).

(3) EPA (1987). Soil Microbial Community Toxicity Test. EPA 40 CFR Part 797.3700. Toxic Substances Control Act Test Guidelines; Proposed rule. September 28, 1987.

(4) SETAC-Europe (1995). Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides, Ed. M.R. Lynch, Pub. SETAC-Europe, Brussels.

(5) OECD (1995). Final Report of the OECD Workshop on Selection of Soils/Sediments, Belgirate, Italy, 18-20 January 1995.

(6) ISO 10381-6 (1993). Soil quality - Sampling. Guidance on the collection, handling and storage of soil for the assessment of aerobic microbial processes in the laboratory.

(7) Anderson, J.P.E. (1987). Handling and Storage of Soils for Pesticide Experiments, in "Pesticide Effects on Soil Microflora". Eds. L. Somerville and M.P. Greaves, Chap. 3: 45-60.

(8) Anderson, J.P.E. (1982). Soil Respiration, in "Methods of Soil Analysis - Part 2: Chemical and Microbiological Properties". Agronomy Monograph N° 9. Eds. A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney. 41: 831- 871.

(9) ISO 11266-1. (1993). Soil Quality - Guidance on Laboratory Tests for Biodegradation in Soil: Part 1. Aerobic Conditions.

(10) ISO 14239 (1997E). Soil Quality - Laboratory incubation systems for measuring the mineralization of organic chemicals in soil under aerobic conditions.

(11) Heinemeye,r O., Insam, H., Kaiser, E.A, and Walenzik, G. (1989). Soil microbial biomass and respiration measurements; an automated technique based on infrared gas analyses. Plant and Soil, 116: 77-81.

(12) ISO 14240-1 (1997). Soil quality - Determination of soil microbial biomass - Part 1: Substrate-induced respiration method.

(13) ISO 14240-2 (1997). Soil quality - Determination of soil microbial biomass - Part 2: Fumigation-extraction method.

(14) Malkomes, H.-P. (1986). Einfluß von Glukosemenge auf die Reaktion der Kurzzeit-Atmung im Boden Gegenüber Pflanzenschutzmitteln, Dargestellt am Beispiel eines Herbizide. (Influence of the Amount of Glucose Added to the Soil on the Effect of Pesticides in Short-Term Respiration, using a Herbicide as an Example). Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd., Braunschweig, 38: 113-120.

(15) Litchfield, J.T. and Wilcoxon, F. (1949). A simplified method of evaluating dose-effect experiments. Jour. Pharmacol. and Exper. Ther., 96, 99-113.

(16) Finney, D.J. (1971). Probit Analysis. 3rd ed., Cambridge, London and New-York.

(17) Finney D.J. (1978). Statistical Methods in biological Assay. Griffin, Weycombe, UK.

Γ.23. ΑΕΡΟΒΙΑ ΚΑΙ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΜΕΤΑΤΡΟΠΗ ΣΤΟ ΕΔΑΦΟΣ

1. ΜΕΘΟΔΟΣ

Η παρούσα μέθοδος δοκιμής είναι αναπαραγωγή της OECD TG 307 (2002)

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παρούσα μέθοδος δοκιμής βασίζεται σε υφιστάμενες κατευθυντήριες οδηγίες (1)(2)(3)(4)(5)(6)(7)(8)(9). Η περιγραφόμενη στο παρόν μέθοδος δοκιμής σχεδιάστηκε για την εκτίμηση της αερόβιας και αναερόβιας μετατροπής χημικών στο έδαφος. Τα πειράματα εκτελούνται για τον προσδιορισμό (i) του ρυθμού μετατροπής της υπό δοκιμή ουσίας, και (ii) της φύσης και των ρυθμών σχηματισμού και απομάκρυνσης προϊόντων μετατροπής στα οποία μπορεί να εκτεθούν φυτά και οργανισμοί του εδάφους. Τέτοιες μελέτες απαιτούνται για χημικά τα οποία εφαρμόζονται απευθείας στο έδαφος ή τα οποία είναι πιθανόν να φθάσουν στο εδαφικό περιβάλλον. Τα αποτελέσματα των εργαστηριακών αυτών μελετών μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για την κατάρτιση πρωτοκόλλων δειγματοληψίας και ανάλυσης σε σχετικές επιτόπιες μελέτες.

Για την αξιολόγηση της πορείας μετατροπής αρκούν γενικά αερόβιες και αναερόβιες μελέτες με ένα τύπο εδάφους (8)(10)(11). Οι ρυθμοί μετατροπής θα πρέπει να προσδιορίζονται σε τρία τουλάχιστον πρόσθετα εδάφη (8)(10).

Σε συνάντηση ανταλλαγής απόψεων του ΟΟΣΑ σχετικά με την επιλογή εδαφών και ιζημάτων, η οποία έλαβε χώρα στην Belgirate στην Ιταλία το 1995 (7) επήλθε συμφωνία, ειδικότερα, για τον αριθμό και τον τύπο των προς χρήση εδαφών στην παρούσα δοκιμή. Οι τύποι των υποβαλλόμενων σε δοκιμή εδαφών θα πρέπει να είναι αντιπροσωπευτικοί των περιβαλλοντικών συνθηκών όπου πραγματοποιείται χρήση ή επέρχεται απελευθέρωση. Για παράδειγμα, χημικά τα οποία μπορεί να απελευθερώνονται σε υποτροπικά έως τροπικά κλίματα θα πρέπει να υποβάλλονται σε δοκιμή με Ferrasols ή Nitosols (σύστημα FAO). Στη συνάντηση, δόθηκαν επίσης συστάσεις σχετικά με τη συλλογή, χειρισμό και αποθήκευση εδαφικών δειγμάτων, με βάση τις κατευθυντήριες οδηγίες του ISO (15). Στην παρούσα μέθοδο εξετάζεται επίσης και η χρήση ορυζοεδαφών.

1.2 ΟΡΙΣΜΟΙ

Ουσία δοκιμής: κάθε ουσία , αρχική ή σχετικά προϊόντα μετατροπής

Προϊόντα μετατροπής: όλες οι ουσίες που προκύπτουν από αντιδράσεις βιοτικής ή αβιοτικής μετατροπής της ουσίας δοκιμής, συμπεριλαμβανομένου του CO_2 και προϊόντων σε δεσμευμένα υπολείμματα.

Δεσμευμένα υπολείμματα: Ως "δεσμευμένα υπολείμματα" χαρακτηρίζονται ενώσεις στο έδαφος, σε φυτά ή σε ζώα, οι οποίες παραμένουν στο υπόστρωμα με τη μορφή της αρχικής ουσίας ή μεταβολιτών της/προϊόντων μετατροπής μετά από εκχύλιση. Η μέθοδος εκχυλίσεως δεν πρέπει να μεταβάλλει ουσιαστικώς αυτές καθ' αυτές τις ενώσεις ή τη δομή του υποστρώματος. Η φύση του δεσμού μπορεί να προσδιοριστεί εν μέρει με τη βοήθεια μεθόδων εκχυλίσεως που μεταβάλλουν το υπόστρωμα και εξειδικευμένες αναλυτικές τεχνικές. Μέχρι σήμερα, για παράδειγμα, έχουν ταυτοποιηθεί με τον τρόπο αυτό ομοιοπολικοί, ιονικοί και ροφητικοί δεσμοί, καθώς επίσης και παγιδεύσεις. Γενικά, ο σχηματισμός δεσμευμένων υπολειμμάτων μειώνει σημαντικώς τη βιοπροσβασιμότητα και βιοδιαθεσιμότητα (12) [τροποποίηση από IUPAC 1984 (13)].

Αερόβια μετατροπή: αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα παρουσία μοριακού οξυγόνου (14).

Αναερόβια μετατροπή: (αναγωγική): αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα απουσία μοριακού οξυγόνου (14).

Έδαφος: μίγμα ανόργανων και οργανικών χημικών συστατικών, όπου στα τελευταία περιλαμβάνονται ενώσεις υψηλής περιεκτικότητας σε άνθρακα και άζωτο και υψηλού μοριακού βάρους, στο οποίο εμφανίζεται ζωή με τη μορφή μικρών (κυρίως μικρο-) οργανισμών. Το έδαφος μπορεί να χρησιμοποιηθεί υπό δύο καταστάσεις:

(α) αδιατάρακτο, όπως έχει διαμορφωθεί με τον καιρό, σε χαρακτηριστικά στρώματα διαφόρων τύπων εδαφών
(β) διαταραγμένο, όπως συνήθως βρίσκεται σε αρώσιμες εκτάσεις ή όπως εμφανίζεται όταν λαμβάνονται δείγματα με σκάψιμο και χρησιμοποιούνται στην παρούσα μέθοδο δοκιμής (14).

Ανοργανοποίηση: η πλήρης αποικοδόμηση μιας οργανικής ενώσεως σε CO_2, H_2O υπό αερόβιες συνθήκες και CH_4, CO_2 και H_2O υπό αναερόβιες συνθήκες. Στην παρούσα μέθοδο δοκιμής, όταν χρησιμοποιείται επισημασμένη με ^{14}C ένωση, ανοργανοποίηση σημαίνει εκτεταμένη αποικοδόμηση κατά την οποία επισημασμένο άτομο άνθρακα οξειδώνεται με απελευθέρωση αντίστοιχης ποσότητας $^{14}CO_2$ (14).

Χρόνος ημιζωής, $t_{0.5}$, είναι ο χρόνος που απαιτείται για την κατά 50% μετατροπή της ουσίας δοκιμής, όταν η κινητική της αντιδράσεως μετατροπής είναι πρώτης τάξεως· είναι ανεξάρτητος της συγκέντρωσης.

DT_{50} (Χρόνος μειώσεως 50): είναι το χρονικό διάστημα στο οποίο η συγκέντρωση της ουσίας δοκιμής μειώνεται κατά 50%. Διαφέρει από το χρόνο ημιζωής $t_{0.5}$ όταν η μετατροπή δεν ακολουθεί κινητική αντιδράσεως πρώτης τάξεως.

DT_{75} (Χρόνος μειώσεως 75): είναι το χρονικό διάστημα στο οποίο η συγκέντρωση της ουσίας δοκιμής μειώνεται κατά 75%.

DT_{90} (Χρόνος μειώσεως 90): είναι το χρονικό διάστημα στο οποίο η συγκέντρωση της ουσίας δοκιμής μειώνεται κατά 90%.

1.3 ΟΥΣΙΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Για τον χαρακτηρισμό και/ή ταυτοποίηση των προϊόντων μετατροπής με τη βοήθεια φασματοσκοπικών και χρωματογραφικών μεθόδων, πρέπει να χρησιμοποιούνται ουσίες αναφοράς.

1.4 ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Η μέθοδος εφαρμόζεται σε όλες τις χημικές ουσίες (μη επισημασμένες ή ραδιοεπισημασμένες) για τις οποίες υπάρχει διαθέσιμη αναλυτική μέθοδος ικανοποιητικής ακριβείας και ευαισθησίας. Εφαρμόζεται σε μη πτητικές ενώσεις, ελαφρώς πτητικές ενώσεις, υδατοδιαλυτές ενώσεις ή και σε υδατοαδιάλυτες ενώσεις. Η δοκιμή δεν θα πρέπει να εφαρμόζεται σε ιδιαιτέρως πτητικές από το έδαφος χημικές ουσίες (π.χ. ατμίζουσες, οργανικοί διαλύτες), οι οποίες δεν μπορούν επομένως να διατηρηθούν στο έδαφος υπό τις πειραματικές συνθήκες της παρούσας δοκιμής.

1.5 ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΥΣΙΑ ΔΟΚΙΜΗΣ

Για τη μέτρηση του ρυθμού μετατροπής μπορεί να χρησιμοποιηθεί επισημασμένη ή μη ουσία δοκιμής. Για τη μελέτη της πορείας μετατροπής και τον προσδιορισμό του ισοζυγίου μάζας, απαιτείται επισημασμένη ουσία. Συνιστάται η επισήμανση με ^{14}C, ωστόσο μπορεί να αποδειχθεί χρήσιμη και η χρήση άλλων ισοτόπων όπως ^{13}C, ^{15}N, ^{3}H, ^{32}P. Η επισήμανση θα πρέπει να γίνεται στο σταθερότερο ή σταθερότερα μέρη του μορίου[1], όσο αυτό είναι δυνατόν. Η καθαρότητα της ουσίας δοκιμής πρέπει να είναι τουλάχιστον 95%.

Πριν από τη διεξαγωγή δοκιμής αερόβιας ή αναερόβιας μετατροπής στο έδαφος, θα πρέπει να υπάρχουν διαθέσιμα τα ακόλουθα στοιχεία σχετικά με την ουσία δοκιμής:

(α) διαλυτότητα σε νερό (Μέθοδος Α.6)
(β) διαλυτότητα σε οργανικούς διαλύτες
(γ) τάση ατμών (Μέθοδος Α.4) και η σταθερά του νόμου του Henry
(δ) συντελεστής κατανομής σε n-οκτανόλη/νερό (Μέθοδος Α.8)
(ε) χημική σταθερότητα στο σκοτάδι (υδρόλυση) (Μέθοδος Γ.7);
(στ) η pK_a, εάν κάποιο μόριο μπορεί να υποστεί πρωτονίωση ή αποπρωτονίωση [Κατ. οδ. ΟΟΣΑ 112] (16).

Άλλες χρήσιμες πληροφορίες μπορεί να είναι δεδομένα για την τοξικότητα της ουσίας δοκιμής στους μικροοργανισμούς του εδάφους [Μέθοδοι δοκιμής Γ.21 και Γ.22] (16).

Θα πρέπει επίσης να υπάρχουν διαθέσιμες αναλυτικές μέθοδοι (συμπεριλαμβανομένων και μεθόδων εκχυλίσεως και καθαρισμού) για την ταυτοποίηση και ποσοτικό προσδιορισμό της ουσίας δοκιμής και των προϊόντων μετατροπής της.

---

[1] Για παράδειγμα, αν η ουσία περιέχει έναν δακτύλιο, απαιτείται επισήμανση στον δακτύλιο αυτό· αν η ουσία δοκιμής περιέχει δύο ή περισσοτέρους δακτυλίους, ίσως χρειαστεί η διεξαγωγή ξεχωριστών μελετών για την αξιολόγηση της τύχης κάθε επισημασμένου δακτυλίου και για τη λήψη καταλλήλων πληροφοριών για το σχηματισμό προϊόντων μετατροπής.

1.6 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΗΣ

Δείγματα εδάφους υποβάλλονται σε κατεργασία με την ουσία δοκιμής και επωάζονται στο σκοτάδι σε βιομετρικές φιάλες ή σε συστήματα διελεύσεως ροής υπό ελεγχόμενες εργαστηριακές συνθήκες (σε σταθερή θερμοκρασία και υγρασία εδάφους) Σε κατάλληλα χρονικά διαστήματα, δείγματα εδάφους εκχυλίζονται και αναλύονται όσον αφορά την αρχική ουσία και τα προϊόντα μετατροπής. Συλλέγονται, επίσης, για ανάλυση και πτητικά προϊόντα χρησιμοποιώντας κατάλληλες διατάξεις απορροφήσεως. Χρησιμοποιώντας επισημασμένο με ^{14}C υλικό, μπορούν να μετρηθούν οι διάφορες ταχύτητες ανοργανοποίησης παγιδεύοντας το εκλυόμενο $^{14}CO_2$ και να προσδιοριστεί ένα ισοζύγιο μάζας, συμπεριλαμβανομένου του σχηματισμού δεσμευμένων στο έδαφος υπολειμμάτων.

1.7 ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

1.7.1 **Ανάκτηση**

Από την εκχύλιση και ανάλυση διπλών, τουλάχιστον, εδαφικών δειγμάτων αμέσως μετά την προσθήκη της ουσίας δοκιμής, προκύπτει μια πρώτη ένδειξη της επαναληψιμότητας της αναλυτικής μεθόδου και της ομοιομορφίας της διαδικασίας εφαρμογής για την ουσία δοκιμής. Οι τιμές ανάκτησης σε μεταγενέστερα στάδια των πειραμάτων προκύπτουν από τα αντίστοιχα ισοζύγια μάζας. Τα ποσοστά ανάκτησης θα πρέπει να κυμαίνονται από 90 έως 110% για επισημασμένες χημικές ουσίες (8) και από 70 έως 110% για μη επισημασμένες χημικές ουσίες (3).

1.7.2 **Επαναληψιμότητα και ευαισθησία της αναλυτικής μεθόδου**

Η επαναληψιμότητα της αναλυτικής μεθόδου (μη συμπεριλαμβανομένης της αποδοτικότητας της αρχικής εκχυλίσεως) για τον ποσοτικό προσδιορισμό της ουσίας δοκιμής και των προϊόντων μετατροπής, μπορεί να ελεγχθεί με τη βοήθεια διπλής αναλύσεως του ίδιου εδαφικού εκχυλίσματος, μετά ικανή επώαση για τον σχηματισμό προϊόντων μετατροπής.

Το όριο ανιχνεύσεως (LOD) της αναλυτικής μεθόδου για την ουσία δοκιμής και για τα προϊόντα μετατροπής θα πρέπει να είναι τουλάχιστον 0.01 $mg \cdot kg^{-1}$ εδάφους (ως ουσία δοκιμής) ή 1% της αρχικής εφαρμοσθείσας δόσεως, όποια τιμή από τις δύο είναι χαμηλότερη. Θα πρέπει επίσης να προσδιορίζεται και το όριο του ποσοτικού προσδιορισμού (LOQ)

1.7.3 **Ακρίβεια δεδομένων μετατροπής**

Από την ανάλυση παλινδρόμησης των συγκεντρώσεων της ουσίας δοκιμής ως συνάρτησης του χρόνου, προκύπτουν τα σχετικά στοιχεία για την αξιοπιστία της καμπύλης μετατροπής και είναι δυνατός ο υπολογισμός των ορίων εμπιστοσύνης για τους χρόνους ημιζωής (αν ισχύει κινητική ψευδο-πρώτης τάξως) ή τις τιμές DT_{50} και, όπου κρίνεται σκόπιμο, DT_{75} και DT_{90}.

1.8 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΗΣ

1.8.1 **Εξοπλισμός και χημικά αντιδραστήρια**

Τα συστήματα επωάσεως αποτελούνται από στατικά κλειστά συστήματα ή κατάλληλα συστήματα διελεύσεως ροής (7)(17). Παραδείγματα κατάλληλων συσκευών διελεύσεως ροής για επώαση εδάφους και φιαλών τύπου βιομέτρου εμφαίνονται στα σχήματα 1 και 2, αντίστοιχα. Αμφότεροι οι τύποι συστημάτων επώασης έχουν πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα (7)(17).

Απαιτείται συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός και, ειδικότερα, τα ακόλουθα:

— Αναλυτικά όργανα όπως GLC, HPLC, TLC-εξοπλισμός, συμπεριλαμβανομένων των κατάλληλων συστημάτων ανίχνευσης για την ανάλυση ραδιοεπισημασμένων ή μη επισημασμένων ουσιών ή μεθόδου ανάστροφης αραίωσης ισοτόπων
— Όργανα για σκοπούς ταυτοποίησης (π.χ. MS, GC-MS, HPLC-MS, NMR, κλπ)
— Υγρός απαριθμητής σπινθηρισμών
— Οξειδωτικό σύστημα για την καύση ραδιενεργού υλικού
— Φυγόκεντρος
— Συσκευή εκχυλίσεως (π.χ., σωλήνες φυγοκέντρου για ψυχρή εκχύλιση και συσκευή Soxhlet για συνεχή εκχύλιση υπό αναρροή)

— Όργανα συμπύκνωσης διαλυμάτων και εκχυλισμάτων (π.χ. περιστροφικός εξατμιστήρας)
— Υδρόλουτρο
— Διάταξη μηχανικής ανάμειξης (π.χ. μηχανή μαλάξεως, περιστροφικός αναμεικτήρας).

Στα χρησιμοποιούμενα χημικά αντιδραστήρια περιλαμβάνονται, π.χ.:

— NaOH, αναλυτικής καθαρότητας, 2 mol · dm^{-3}, ή άλλη κατάλληλη βάση (π.χ. KOH, αιθανολαμίνη)
— H_2SO_4, αναλυτικής καθαρότητας, 0.05 mol · dm^{-3}
— Αιθυλενογλυκόλη, αναλυτικής καθαρότητας;
— Στερεά απορροφητικά υλικά όπως νατράσβεστος και βύσματα πολυουρεθάνης
— Οργανικοί διαλύτες, αναλυτικής καθαρότητας, όπως ακετόνη, μεθανόλη, κλπ.
— Υγρό σπινθηρισμών.

1.8.2 **Εφαρμογή ουσίας δοκιμής**

Για την προσθήκη και κατανομή στο έδαφος, η ουσία δοκιμής μπορεί να διαλυθεί σε νερό (απιονισμένο ή απεσταγμένο) ή, όταν είναι αναγκαίο, σε ελάχιστες ποσότητες ακετόνης ή άλλων οργανικών διαλυτών (6) όπου η ουσία δοκιμής είναι επαρκώς διαλυτή και σταθερή. Ωστόσο, η ποσότητα του επιλεγόμενου διαλύτη δεν θα πρέπει να έχει σημαντική επίδραση στην εδαφική μικροβιακή δραστικότητα (βλ. 1.5 και 1.9.2-1.9.3) Η χρήση διαλυτών που αναστέλουν τη μικροβιακή δράση, όπως το χλωροφόρμιο, το διχλωρομεθάνιο και άλλοι αλογονωμένοι διαλύτες, θα πρέπει να αποφεύγεται.

Η ουσία δοκιμής μπορεί να προστίθεται επίσης ως στερεό, π.χ. αναμεμειγμένη σε χαλαζιακή άμμο (6) ή σε μικρό μερικό δείγμα του υπό δοκιμή εδάφους που έχει ξηρανθεί με αέρα και αποστειρωθεί. Εάν η ουσία δοκιμής προστεθεί χρησιμοποιώντας κάποιο διαλύτη, ο διαλύτης θα πρέπει να αφήνεται να εξατμιστεί πριν το μερικό δείγμα προστεθεί στο αρχικό μη στείρο εδαφικό δείγμα.

Για χημικά εν γένει, η κύρια οδός εισόδου των οποίων στο έδαφος είναι μέσω γεωργικής εφαρμογής/λάσπης υπονόμων, η υπό δοκιμή ουσία θα πρέπει πρώτα να προστίθεται σε λάσπη που στη συνέχεια εισάγεται στο εδαφικό δείγμα. (βλ. ενότητες 1.9.2 και 1.9.3)

Δεν συνιστάται η συνήθης χρήση τυποποιημένων στη σύνθεση προϊόντων. Ωστόσο, για μη ευκόλως διαλυόμενες ουσίες δοκιμής, η χρήση τυποποιημένου υλικού μπορεί να είναι μια κατάλληλη εναλλακτική λύση.

1.8.3 **Εδάφη**

1.8.3.1 *Επιλογή εδαφών*

Για τον προσδιορισμό της πορείας μετατροπής, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ένα αντιπροσωπευτικό έδαφος· συνιστάται κάποιο αμμώδες αργιλούχο ή λασπώδες αργιλούχο ή αργιλώδες έδαφος ή αργιλώδης άμμος (sandy loam/silty loam/loam/loamy sand) [σύμφωνα με την ταξινόμηση FAO και USDA (18)] με pH 5.5-8.0, περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα 0.5-2.5% και μικροβιακή βιομάζα τουλάχιστον 1% του συνολικού οργανικού άνθρακα (10).

Για μελέτες ρυθμού μετατροπής θα πρέπει να χρησιμοποιούνται τουλάχιστον τρία ακόμη εδάφη που να αντιπροσωπεύουν μια σειρά σχετικών εδαφών. Τα εδάφη θα πρέπει να ποικίλουν από πλευράς περιεκτικότητας σε οργανικό άνθρακα, pH, περιεκτικότητα σε άργιλο και μικροβιακή βιομάζα (10).

Όλα τα εδάφη θα πρέπει να χαρακτηρίζονται, τουλάχιστον, ως προς την υφή τους (% άμμος, % ιλύς, % άργιλος) [σύμφωνα με την ταξινόμηση FAO και USDA (18)], το pH, την κατιοανταλλακτική τους ικανότητα, την περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα, τη φαινόμενη πυκνότητα, τις ιδιότητές του ως προς τη συγκράτηση νερού[2] και τη μικροβιακή βιομάζα (για αερόβιες μόνο μελέτες). Τυχόν πρόσθετες πληροφορίες για τις ιδιότητες των εδαφών μπορεί να είναι χρήσιμες στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Για τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών των εδαφών, μπορούν να χρησιμοποιηθούν οι μέθοδοι που συνιστώνται στις παραπομπές (19)(20)(21)(22)(23). Η μικροβιακή βιομάζα θα πρέπει να προσδιορίζεται χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της επαγόμενης υπό του υποστρώματος αναπνοής (SIR) (25)(26) ή εναλλακτικές μεθόδους (20).

---

2 Το χαρακτηριστικό της συγκράτησης νερού από ένα έδαφος μπορεί να μετρηθεί ως επί του πεδίου ικανότητα, ως ικανότητα συγκράτησης νερού ή ως τάση ρόφησης νερού (pF). Για εξηγήσεις, βλ. παράρτημα 1. Θα πρέπει να αναφέρεται στην έκθεση δοκιμής αν τα χαρακτηριστικά της συγκράτησης νερού και της φαινομενικής πυκνότητας των εδαφών προσδιορίστηκαν σε αδιατάρακτα δείγματα πεδίου ή σε διαταραγμένα (επεξεργασμένα) δείγματα.

1.8.3.2 *Συλλογή, χειρισμός και αποθήκευση εδαφών*

Θα πρέπει να υπάρχουν διαθέσιμες λεπτομερείς πληροφορίες για το ιστορικό του τόπου απ' όπου συλλέγεται το προς δοκιμή έδαφος. Στις πληροφορίες περιλαμβάνονται ο ακριβής τόπος, η κάλυψη από βλάστηση, κατεργασίες με χημικά, κατεργασίες με οργανικά και ανόργανα λιπάσματα, προσθήκες βιολογικών υλικών ή άλλη μόλυνση. Εάν εδάφη έχουν υποστεί κατεργασία με την υπό δοκιμή ουσία ή δομικά της ανάλογα μέσα στα προηγούμενα τέσσερα χρόνια, αυτά δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για μελέτες μετατροπής (10)(15).

Το έδαφος θα πρέπει να έχει συλλεγεί πρόσφατα από τον τόπο προέλευσης (από τον ορίζοντα Α ή την άνω στιβάδα πάχους 20 cm) με περιεκτικότητα σε νερό τέτοια που να διευκολύνει το κοσκίνισμα. Για εδάφη άλλα εκείνων από ορυζώνες, η δειγματοληψία θα πρέπει να αποφεύγεται κατά τη διάρκεια ή αμέσως μετά μακρές περιόδους (> 30 ημέρες) ξηρασίας, παγετού ή πλημμυρών (14). Τα δείγματα θα πρέπει να μεταφέρονται με τρόπο που να ελαχιστοποιεί μεταβολές στην υγρασία του εδάφους και θα πρέπει να διατηρούνται στο σκοτάδι με ελεύθερη πρόσβαση αέρα, κατά το δυνατόν. Μια χαλαρά δεμένη σακούλα πολυαιθυλενίου είναι γενικά κατάλληλη για το σκοπό αυτό.

Το έδαφος θα πρέπει να υποβάλλεται σε κατεργασία το συντομότερο δυνατό μετά τη δειγματοληψία. Βλάστηση, μεγάλου μεγέθους εδαφική πανίδα και πέτρες θα πρέπει να απομακρύνονται πριν από τη διέλευση του εδάφους μέσω κοσκίνου 2 mm που απομακρύνει μικρές πέτρες, πανίδα και υπολείμματα φυτών. Θα πρέπει να αποφεύγεται εκτεταμένη ξήρανση και σύνθλιψη του εδάφους πριν από το κοσκίνισμα (15).

Όταν το χειμώνα είναι δύσκολη η δειγματοληψία στο ύπαιθρο (παγωμένο έδαφος ή καλυμμένο από στιβάδες χιονιού), αυτή μπορεί να γίνει από εδάφη θερμοκηπίου υπό φυτική κάλυψη (π.χ. χλόη ή μίγματα χλόης-τριφυλιού). Προτιμώνται οπωσδήποτε εδάφη προσφάτως συλλεγμένα από την ύπαιθρο, εάν όμως το συλλεγέν και επεξεργασθέν χώμα πρέπει να αποθηκευθεί πριν από την έναρξη της μελέτης, οι συνθήκες αποθήκευσης πρέπει να είναι κατάλληλες και για περιορισμένο χρονικό διάστημα μόνο (4 ± 2°C το πολύ για τρεις μήνες) για διατήρηση της μικροβιακής δραστικότητας[3]. Λεπτομερείς οδηγίες για τη συλλογή, το χειρισμό και την αποθήκευση των εδαφών που προορίζονται να χρησιμοποιηθούν σε πειράματα βιομετατροπής μπορούν να βρεθούν στα (8)(10)(15)(26)(27).

Προτού το επεξεργασμένο χώμα χρησιμοποιηθεί για την παρούσα δοκιμή, θα πρέπει να προεπωάζεται για να επέρχεται φύτρωμα και απομάκρυνση των σπόρων και να αποκαθίσταται εκ νέου ισορροπία μικροβιακού μεταβολισμού μετά την αλλαγή από συνθήκες δειγματοληψίας ή αποθήκευσης σε συνθήκες επώασης. Γενικά, αρκεί περίοδος προεπώασης μεταξύ 2 και 28 ημερών με πλησίστιες συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας με εκείνες της πραγματικής δοκιμής (15). Ο χρόνος αποθήκευσης και προεπώασης δεν θα πρέπει να υπερβαίνει συνολικά τους τρεις μήνες.

1.9 ΕΚΤΕΛΕΣΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

1.9.1 **Συνθήκες δοκιμής**

1.9.1.1 *Θερμοκρασία δοκιμής*

Κατά τη διάρκεια της όλης περιόδου δοκιμής, τα εδάφη θα πρέπει να επωάζονται στο σκοτάδι σε σταθερή θερμοκρασία αντιπροσωπευτική των κλιματικών συνθηκών όπου θα γίνει χρήση ή θα επέλθει απελευθέρωση. Για όλες τις ουσίες δοκιμής που μπορεί να φθάσουν στο έδαφος σε εύκρατα κλίματα, συνιστάται θερμοκρασία 20 ± 2 °C. Η θερμοκρασία θα πρέπει να ελέγχεται.

Για χημικές ενώσεις χρησιμοποιούμενες ή απελευθερούμενες σε ψυχρότερα κλίματα (π.χ. σε βόρειες χώρες, κατά τη διάρκεια του φθινοπώρου/χειμώνα), θα πρέπει να επωάζονται πρόσθετα εδαφικά δείγματα και σε χαμηλότερη θερμοκρασία (π.χ. 10 ± 2 °C).

[3] Πρόσφατα ερευνητικά αποτελέσματα δείχνουν ότι εδάφη από εύκρατες ζώνες μπορούν να αποθηκευτούν και στους –20°C για περισσότερους από τρεις μήνες (28)(29) χωρίς σημαντικές απώλειες μικροβιακής δραστικότητας.

1.9.1.2 *Υγρασία*

Σε δοκιμές μετατροπής υπό αερόβιες συνθήκες, η υγρασία του εδάφους([4]) θα πρέπει να προσαρμόζεται και να διατηρείται σε τιμές pF μεταξύ 2,0 και 2,5 (3). Η υγρασία του εδάφους εκφράζεται ως μάζα ύδατος ανά μάζα ξηρού εδάφους και θα πρέπει να ελέγχεται τακτικά (π.χ. ανά δύο εβδομάδες) ζυγίζοντας τις φιάλες επώασης και αναπληρώνοντας τις υδατικές απώλειες με προσθήκη νερού (κατά προτίμηση διηθημένο σε στείρο περιβάλλον νερό βρύσης). Θα πρέπει να λαμβάνεται πρόνοια για την πρόληψη ή ελαχιστοποίηση απωλειών ουσίας δοκιμής και/ή προϊόντων μετατροπής λόγω διαφυγής πτητικών συστατικών και/ή τυχόν φωτοαποικοδόμησης κατά τη διάρκεια προσθήκης υγρασίας.

Σε δοκιμές μετατροπής υπό αναερόβιες και συνθήκες ορυζώνων, το χώμα κορέννυται σε νερό με κατάκλυση.

1.9.1.3 *Αερόβιες συνθήκες επώασης*

Στα συστήματα διελεύσεως ροής, οι αερόβιες συνθήκες διατηρούνται με ενδιάμεσες αποχύσεις ή με συνεχή αερισμό με ένυγρο αέρα. Στις βιομετρικές φιάλες, η ανταλλαγή αέρα διατηρείται με διάχυση.

1.9.1.4 *Στείρες αερόβιες συνθήκες*

Για τη λήψη πληροφοριών όσον αφορά τη σπουδαιότητα της αβιοτικής μετατροπής μιας ουσίας δοκιμής, τα εδαφικά δείγματα μπορούν να αποστειρώνονται (για μεθόδους αποστείρωσης βλ. παραπομπές 16 και 29), να υποβάλλονται σε κατεργασία με στείρα ουσία δοκιμής (π.χ. προσθήκη διαλύματος μέσω στείρου φίλτρου) και να αερίζονται με ένυγρο στείρο αέρα όπως περιγράφεται στο 1.9.1.3. Στην περίπτωση εδαφών ορυζώνα, έδαφος και νερό θα πρέπει να αποστειρώνονται και η επώαση να εκτελείται όπως περιγράφεται στο 1.9.1.6.

1.9.1.5 *Αναερόβιες συνθήκες επώασης*

Για την αποκατάσταση και διατήρηση αναερόβιων συνθηκών, το έδαφος, αφού υποστεί κατεργασία με την ουσία δοκιμής και επωαστεί υπό αερόβιες συνθήκες επί 30 ημέρες ή για χρονικό διάστημα αντιστοιχούν σε μια ημιζωή ή DT_{50} (όποιο χρονικό διάστημα είναι συντομότερο), στη συνέχεια κατακλύζεται με νερό (υδατική στιβάδα 1-3 cm) και το σύστημα επώασης καθαρίζεται με αδρανές αέριο (π.χ. άζωτο ή αργό)[5]. Το σύστημα δοκιμής πρέπει να επιτρέπει τη διενέργεια μετρήσεων παραμέτρων όπως το pH, η συγκέντρωση οξυγόνου και το δυναμικό οξειδοαναγωγής και να περιλαμβάνει διατάξεις παγίδευσης για πτητικά προϊόντα. Το βιομετρικό σύστημα πρέπει να είναι κλειστό για να αποφεύγεται η είσοδος αέρα με διάχυση.

1.9.1.6 *Επώαση υπό συνθήκες αναπτυσσόμενης (μη αποφλοιωμένης) όρυζας*

Για τη μελέτη της μετατροπής σε εδάφη αναπτυσσόμενης όρυζας, το χώμα κατακλύζεται με στρώμα νερού πάχους 1-5 cm και στην υδατική φάση προσάγεται η ουσία δοκιμής (9). Συνιστάται βάθος εδάφους τουλάχιστον 5 cm. Το σύστημα αερίζεται με αέρα ως υπό αερόβιες συνθήκες. Θα πρέπει να παρακολουθείται και να αναφέρεται το pH, η συγκέντρωση οξυγόνου και το δυναμικό οξειδοαναγωγής της υδατικής στιβάδας. Πριν από την έναρξη της μελέτης μετατροπής, απαιτείται περίοδος προεπώασης τουλάχιστον δύο εβδομάδων (βλ. ενότητα 1.8.3.2).

---

4 Το έδαφος δεν θα πρέπει να είναι ούτε πολύ υγρό ούτε πολύ ξηρό για τη διατήρηση επαρκούς αερισμού και διατροφής της μικροχλωρίδας του εδάφους. Οι συνιστώμενες τιμές υγρασίας για άριστη μικροβιακή ανάπτυξη είναι από 40-60% ικανότητα συγκράτησης νερού (WHC) και από 0.1-0.33 bar (6). Η τελευταία περιοχή ισοδυναμεί με περιοχή pF 2.0 – 2.5. Τυπικές τιμές υγρασίας διαφόρων τύπων εδαφών δίδονται στο παράρτημα 2.

5 Σε επιφανειακά εδάφη, ακόμη και σε υποεπιφανειακά εδάφη, επικρατούν αερόβιες συνθήκες όπως φαίνεται από χρηματοδοτηθέν από την ΕΕ ερευνητικό έργο [K. Takagi et al. (1992). Microbial diversity and activity in subsoils: Methods, field site, seasonal variation in subsoil temperatures and oxygen contents. Proc. Internat. Symp. Environm. Aspects Pesticides Microbiol., 270-277, 17-21 August 1992, Sigtuna, Sweden]. Αναερόβιες συνθήκες μπορούν να απαντηθούν μόνον περιοδικώς κατά τη διάρκεια πλημμυρών εδαφών μετά από ισχυρές βροχοπτώσεις ή όταν σε ορυζώνες δημιουργούνται συνθήκες αναπτυσσόμενης (μη αποφλοιωμένης) όρυζας (paddy conditions).

1.9.1.7 *Διάρκεια δοκιμής*

Οι μελέτες ρυθμού και πορείας δεν θα πρέπει κανονικά να υπερβαίνουν τις 120 ημέρες[6] (3)(6)(8), διότι στη συνέχεια θα πρέπει να αναμένεται με το χρόνο μείωση της μικροβιακής δραστικότητας του εδάφους δεδομένου ότι πρόκειται για τεχνητό εργαστηριακό σύστημα απομονωμένο από φυσικό ανεφοδιασμό. Όπου είναι αναγκαίο για το χαρακτηρισμό της μείωσης της ουσίας δοκιμής και το σχηματισμό και απομάκρυνση βασικών προϊόντων μετατροπής, οι μελέτες μπορούν να συνεχίζονται για μεγαλύτερες περιόδους (π.χ. 6 ή 12 μήνες) (8). Τυχόν μεγαλύτερες περίοδοι επώασης θα πρέπει να αιτιολογούνται στην έκθεση δοκιμής και να συνοδεύονται από μετρήσεις βιομάζας κατά τη διάρκεια και στο τέλος των περιόδων αυτών.

1.9.2 **Εκτέλεση της δοκιμής**

Σε κάθε φιάλη επωάσεως φέρονται περίπου 50 έως 200 g εδάφους (σε ξηρή βάση) (βλ. σχήματα 1 και 2 στο παράρτημα 3) και το έδαφος υποβάλλεται σε κατεργασία με την ουσία δοκιμής με μία από τις μεθόδους που περιγράφονται στο 1.8.2. Όταν για την προσαγωγή της ουσίας δοκιμής χρησιμοποιούνται οργανικοί διαλύτες, αυτοί θα πρέπει να απομακρύνονται από το έδαφος με εξάτμιση. Κατόπιν το έδαφος αναμειγνύεται επισταμένως με μια σπάτουλα και/ή με ανακίνηση της φιάλης. Εάν η μελέτη διεξάγεται υπό συνθήκες αναπτυσσόμενης όρυζας, έδαφος και νερό θα πρέπει να αναμειγνύονται επισταμένως μετά την εφαρμογή της ουσίας δοκιμής. Κατάλληλες μικρές ποσότητες (π.χ. 1 g) των κατεργασμένων εδαφών θα πρέπει να αναλύονται για την ουσία δοκιμής για να ελέγχεται αν υπάρχει ομοιόμορφη κατανομή. Για εναλλακτική μέθοδο, βλ. κατωτέρω.

Το ποσοστό κατεργασίας θα πρέπει να ανταποκρίνεται στο μέγιστο ποσοστό εφαρμογής ενός προϊόντος προστασίας καλλιεργειών που συνιστάται στις οδηγίες χρήσεως και σε ομοιόμορφη ενσωμάτωση σε κατάλληλο βάθος στο έδαφος (π.χ. άνω στιβάδα εδάφους πάχους 10 cm[7]). Για παράδειγμα, για χημικά που εφαρμόζονται στο φύλλωμα ή στο έδαφος χωρίς ενσωμάτωση, το κατάλληλο βάθος για τον υπολογισμό της ποσότητας χημικού που θα πρέπει να προστεθεί σε κάθε φιάλη είναι 2,5 cm. Στην περίπτωση χημικών ενσωματούμενων στο έδαφος, το κατάλληλο βάθος είναι το βάθος ενσωμάτωσης που προσδιορίζεται στις οδηγίες χρήσεως. Για χημικά εν γένει, το ποσοστό εφαρμογής θα πρέπει να εκτιμάται με βάση τον κυριότερο τρόπο εισόδου· για παράδειγμα, όταν η σημαντικότερη οδός εισόδου στο έδαφος είναι μέσω λάσπης υπονόμων, το χημικό θα πρέπει να προστίθεται στη λάσπη σε συγκέντρωση που να αντικατοπτρίζει την αναμενόμενη συγκέντρωση στη λάσπη ενώ η ποσότητα της προστιθέμενης στο έδαφος λάσπης θα πρέπει να αντικατοπτρίζει το κανονικό φορτίο λάσπης των γεωργικών εδαφών. Εάν η συγκέντρωση αυτή δεν είναι αρκετά υψηλή για την ταυτοποίηση βασικών προϊόντων μετατροπής, μπορεί να είναι χρήσιμη η επώαση ξεχωριστών εδαφικών δειγμάτων με υψηλότερα ποσοστά, θα πρέπει όμως να αποφεύγονται υπερβολικά ποσοστά που επηρεάζουν τις λειτουργίες των μικροοργανισμών του εδάφους (βλ. 1.5 και 1.8.2).

Εναλλακτικώς, μπορεί να υποβληθεί σε κατεργασία με την ουσία δοκιμής και κάποια μεγαλύτερη ποσότητα (δηλ. 1 έως 2 kg) εδάφους, προσεκτικά αναμεμειγμένη σε κατάλληλο μηχάνημα μείξεως και κατόπιν να μεταφερθεί σε μικρές ποσότητες των 50 έως 200 g σε φιάλες επωάσεως (π.χ. με τη χρήση διαχωριστών δειγμάτων). Κατάλληλες μικρές ποσότητες (π.χ. 1 g) του υποβληθέντος σε κατεργασία εδάφους θα πρέπει να αναλύονται για τον έλεγχο της ομοιόμορφης κατανομής της υπό δοκιμή ουσίας. Η διαδικασία αυτή προτιμάται επειδή παρέχει τη δυνατότητα πιο ομοιόμορφης κατανομής της υπό δοκιμή ουσίας στο έδαφος.

Υπό τις ίδιες συνθήκες (αερόβιες) με εκείνες δειγμάτων υποβληθέντων σε κατεργασία με την υπό δοκιμή ουσία επωάζονται και μη κατεργασμένα εδαφικά δείγματα. Τα δείγματα αυτά χρησιμοποιούνται για μετρήσεις βιομάζας κατά τη διάρκεια και στο τέλος των μελετών.

---

6 Οι αερόβιες μελέτες μπορεί να τερματιστούν πολύ πριν από τις 120 ημέρες υπό την προϋπόθεση ότι μέχρι το χρονικό αυτό σημείο έχουν φθάσει σαφώς στο τελικό τους σημείο η πορεία μετατροπής και η ανοργανοποίηση. Ο τερματισμός της δοκιμής είναι δυνατός και μετά 120 ημέρες, ή όταν έχει μετατραπεί το 90% τουλάχιστον της ουσίας δοκιμής, αλλά μόνον εάν έχει σχηματιστεί τουλάχιστον 5% CO_2.

7 Υπολογισμός της αρχικής συγκέντρωσης στη βάση περιοχής χρησιμοποιώντας την ακόλουθη εξίσωση:

$$C_{soil}[mg/kg_{soil}] = \frac{A[kg/ha] \cdot 10^6 [mg/kg]}{l[m] \cdot 10^4 [m^2/ha] \cdot d[kg_{soil}/m^3]}$$

C_{soil} = Αρχική συγκέντρωση στο έδαφος [$mg \cdot kg^{-1}$]

A = Ποσοστό εφαρμογής [$kg \cdot ha^{-1}$]; 1 = πάχος εδαφικής στιβάδος τόπου [m]; d = ξηρά φαινόμενη πυκνότητα εδάφους [$kg \cdot m^{-3}$].

Κατά κανόνα, ποσοστό εφαρμογής 1 $kg \cdot ha^{-1}$ οδηγεί σε συγκέντρωση εδάφους περίπου 1 $mg \cdot kg^{-1}$ σε στιβάδα 10 cm (για τιμή φαινόμενης πυκνότητας 1 $g \cdot cm^{-3}$).

Όταν η ουσία δοκιμής εφαρμόζεται στο έδαφος διαλελυμένη σε οργανικό ή οργανικούς διαλύτες, εδαφικά δείγματα επεξεργασμένα με την ίδια ποσότητα διαλύτη ή διαλυτών επωάζονται υπό τις αυτές συνθήκες (αερόβιες) με εκείνες των κατεργασμένων με την ουσία δοκιμής δειγμάτων. Τα δείγματα αυτά χρησιμοποιούνται για μετρήσεις βιομάζας στην αρχή, κατά τη διάρκεια και στο τέλος των μελετών για τον έλεγχο των επιδράσεων του ή των διαλυτών στη μικροβιακή βιομάζα..

Οι φιάλες που περιέχουν το κατεργασμένο έδαφος είτε τοποθετούνται στο σύστημα διελεύσεως ροής που περιγράφεται στο σχήμα 1, είτε κλείονται με τη στήλη απορρόφησης που εμφαίνεται στο σχήμα 2 (βλ. παράρτημα 3).

1.9.3 **Δειγματοληψία και μέτρηση**

Σε κατάλληλα χρονικά διαστήματα, λαμβάνονται διπλές φιάλες επωάσεως και τα εδαφικά δείγματα εκχυλίζονται με κατάλληλους διαλύτες διαφορετικής πολικότητας και αναλύονται όσον αφορά την ουσία δοκιμής και/ή προϊόντα μετατροπής. Σε μια καλοσχεδιασμένη μελέτη, πρέπει να υπάρχει ικανός αριθμός φιαλών έτσι ώστε σε κάθε δειγματοληψία να αναλίσκονται δύο φιάλες. Επίσης, σε διάφορα χρονικά διαστήματα (ανά 7 ημέρες κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα και ανά 17 ημέρες μετά τον πρώτο μήνα), κατά τη διάρκεια και στο τέλος της επώασης κάθε εδαφικού δείγματος, λαμβάνονται απορροφητικά διαλύματα ή στερεά υλικά απορρόφησης και αναλύονται για πτητικά προϊόντα. Επιπλέον, θα πρέπει να περιλαμβάνεται και δείγμα εδάφους λαμβανόμενο απευθείας μετά την εφαρμογή (δείγμα ημέρας 0) από 5 τουλάχιστον πρόσθετα σημεία δειγματοληψίας. Τα χρονικά διαστήματα θα πρέπει να επιλέγονται με τέτοιο τρόπο ώστε να μπορεί να διαμορφώνεται πρότυπο μείωσης της ουσίας δοκιμής και πρότυπα σχηματισμού και απομάκρυνσης των προϊόντων μετατροπής (π.χ. 0, 1, 3, 7 ημέρες· 2, 3 εβδομάδες· 1, 2, 3 μήνες, κλπ.).

Όταν χρησιμοποιείται ουσία δοκιμής επισημασμένη με ^{14}C, θα προσδιορίζεται ποσοτικά με καύση η μη εκχυλίσιμη ραδιενέργεια και θα υπολογίζεται για κάθε χρονική στιγμή δειγματοληψίας ένα ισοζύγιο μάζας.

Στην περίπτωση αναερόβιας και επώασης υπό συνθήκες αναπτυσσόμενης όρυζας, η εδαφική και υδατική φάση αναλύονται μαζί για την ουσία δοκιμής και τα προϊόντα μετατροπής ή διαχωρίζονται με διήθηση ή φυγοκέντρηση πρίν από την εκχύλιση και ανάλυση.

1.9.4 **Προαιρετικές δοκιμές**

Αερόβιες, μη στείρες μελέτες σε διάφορες πρόσθετες θερμοκρασίες και με διάφορα ποσοστά υγρασίας εδάφους μπορεί να είναι χρήσιμες για την εκτίμηση της επίδρασης της θερμοκρασίας και της υγρασίας των εδαφών στους ρυθμούς μετατροπής μιας ουσίας δοκιμής και/ή των προϊόντων της μετατροπής στο έδαφος.

Μπορεί να επιχειρηθεί ένας πρόσθετος χαρακτηρισμός μη εκχυλίσιμης ραδιενέργειας χρησιμοποιώντας, π.χ.,τη μέθοδο της υπέρ το κρίσιμο σημείο εκχύλισης ρευστού.

2 **ΔΕΔΟΜΕΝΑ**

2.1 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Οι ποσότητες της ουσίας δοκιμής, των προϊόντων μετατροπής, των πτητικών ουσιών (μόνον %) και των μη εκχυλισίμων θα πρέπει να δίδονται ως % της εφαρμοζόμενης αρχικής συγκέντρωσης και, όπου είναι σκόπιμο, ως $mg \cdot kg^{-1}$ εδάφους (επί ξηρού βάρους) για κάθε χρονική στιγμή δειγματοληψίας. Για κάθε χρονική στιγμή δειγματοληψίας θα πρέπει να δίδεται ως ποσοστό της εφαρμοζόμενης αρχικής συγκέντρωσης ένα ισοζύγιο μάζας. Μέσω γραφικής παράστασης των συγκεντρώσεων της ουσίας δοκιμής συναρτήσει του χρόνου μπορεί να γίνει εκτίμηση του χρόνου ημιζωής ή του DT_{50} στη μετατροπή. Βασικά προϊόντα μετατροπής θα πρέπει να ταυτοποιούνται και οι συγκεντρώσεις τους θα πρέπει να παρίστανται επίσης γραφικώς συναρτήσει του χρόνου για ανεύρεση των ρυθμών σχηματισμού και απομάκρυνσης. Βασικό προϊόν μετατροπής είναι κάθε προϊόν που αντιπροσωπεύει ≥ 10% της εφαρμοζόμενης δόσεως σε κάθε χρονική στιγμή κατά τη διάρκεια της μελέτης.

Τα παγιδευόμενα πτητικά προϊόντα δίνουν μια ένδειξη του βαθμού πτητικότητας μιας ουσίας δοκιμής και των προϊόντων μετατροπής της από το έδαφος.

Με την εφαρμογή υπολογισμών στη βάση κατάλληλου μοντέλου κινητικής, θα πρέπει να λαμβάνονται ακριβέστεροι προσδιορισμοί τιμών χρόνου ημιζωής ή DT_{50} και, αν είναι σκόπιμο, DT_{75} και DT_{90}. Οι τιμές ημιζωής και DT_{50} θα πρέπει να αναφέρονται μαζί με την περιγραφή του χρησιμοποιηθέντος μοντέλου, της τάξης κινητικής και του συντελεστή προσδιορισμού (r^2). Ευνοείται κινητική πρώτης τάξεως εκτός αν $r^2 < 0.7$. Εάν είναι σκόπιμο, οι υπολογισμοί θα πρέπει να αφορούν και τα βασικά προϊόντα μετατροπής. Παραδείγματα κατάλληλων μοντέλων περιγράφονται στις παραπομπές 31 έως 35.

Στην περίπτωση μελετών ρυθμού σε διάφορες θερμοκρασίες, οι ρυθμοί μετατροπής θα πρέπει να περιγράφονται ως συνάρτηση της θερμοκρασίας στην περιοχή των πειραματικών θερμοκρασιών χρησιμοποιώντας τη σχέση Arrhenius του τύπου:

$$k = A \cdot e^{-B/T} \quad ή \quad \ln k = \ln A - \frac{B}{T},$$

όπου ln A και B είναι σταθερές αναγωγής από την τομή και κλίση, αντίστοιχα, γραμμής άριστης εφαρμογής προερχόμενης από τη γραμμική αναγωγή του ln k συναρτήσει της 1/T, k είναι η σταθερά ρυθμού στη θερμοκρασία T και T είναι η θερμοκρασία σε Kelvin. Θα πρέπει να δίδεται προσοχή στο περιορισμένο εύρος θερμοκρασιών στο οποίο ισχύει η σχέση Arrhenius σε περίπτωση όπου η μετατροπή διέπεται από μικροβιακή δράση.

2.2 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Αν και οι μελέτες διεξάγονται σε τεχνητό εργαστηριακό σύστημα, τα αποτελέσματα παρέχουν τη δυνατότητα εκτίμησης του ρυθμού μετατροπής της ουσίας δοκιμής και του ρυθμού σχηματισμού και απομάκρυνσης των προϊόντων μετατροπής υπό συνθήκες επιτόπιας εφαρμογής (36)(37).

Μελέτη της πορείας μετατροπής ουσίας δοκιμής παρέχει πληροφορίες για τον τρόπο με τον οποίο η εφαρμοζόμενη ουσία υφίσταται δομικές μετατροπές στο έδαφος από χημικές και μικροβιακές αντιδράσεις.

3 **ΈΚΘΕΣΗ**

3.1 ΕΚΘΕΣΗ ΔΟΚΙΜΗΣ

Η έκθεση δοκιμής πρέπει να περιλαμβάνει τα εξής:

Ουσία δοκιμής:

— συνήθης ονομασία, χημική ονομασία, αριθμός CAS, συντακτικός τύπος (με υπόδειξη της θέσεως του ή των ιχνηθετών, όταν χρησιμοποιείται ραδιοεπισημασμένο υλικό) και σχετικές φυσικοχημικές ιδιότητες (βλ. ενότητα 1.5)
— καθαρότητα (προσμείξεις) της ουσίας δοκιμής
— ραδιοχημική καθαρότητα της επισημασμένης χημικής ουσίας και ειδική ενεργότητα (όπου αυτό κρίνεται απαραίτητο.

Ουσία αναφοράς:

— χημική ονομασία και δομή των ουσιών αναφοράς που χρησιμοποιούνται για το χαρακτηρισμό ή/και την ταυτοποίηση των προϊόντων μετατροπής

Εδάφη δοκιμής:

— στοιχεία για τον τόπο συλλογής,
— ημερομηνία και διαδικασία δειγματοληψίας του εδάφους,
— ιδιότητες των εδαφών, όπως pH, περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα, υφή (% άμμος, % ιλύς, % άργιλος), κατιοανταλλακτική ικανότητα, φαινόμενη πυκνότητα, χαρακτηριστικά κατακράτησης νερού και μικροβιακή βιομάζα,
— χρόνος αποθήκευσης και συνθήκες αποθήκευσης (αν προηγήθηκε αποθήκευση)

Συνθήκες δοκιμής:

- ημερομηνίες εκτέλεσης των μελετών,
- ποσότητα της ουσίας δοκιμής,
- χρησιμοποιηθέντες διαλύτες και μέθοδος εφαρμογής της ουσίας δοκιμής,
- βάρος αρχικώς υποβληθέντος σε κατεργασία εδάφους και του οποίου η δειγματοληψία γινόταν σε κάθε χρονική στιγμή για ανάλυση
- περιγραφή του χρησιμοποιηθέντος συστήματος επώασης,
- ταχύτητες ροής αέρα (μόνο για συστήματα διέλευσης ροής)
- θερμοκρασία πειράματος,
- υγρασία εδάφους κατά την επώαση,
- μικροβιακή βιομάζα αρχικώς, κατά τη διάρκεια και στο τέλος των αερόβιων μελετών,
- pH, συγκέντρωση οξυγόνου και οξειδοαναγωνικό δυναμικό αρχικά, κατά τη διάρκεια και στο τέλος των αναερόβιων και υπό συνθήκες ορυζώνα μελετών,
- μέθοδος(οι) εκχύλισης,
- μέθοδοι ποσοτικού προσδιορισμού και ταυτοποίησης της ουσίας δοκιμής και βασικών προϊόντων μετατροπής στο έδαφος και σε υλικά απορροφήσεως,
- αριθμός επαναληπτικών δειγμάτων και αριθμός μαρτύρων.

Αποτελέσματα:

- αποτέλεσμα προσδιορισμού μικροβιακής δραστικότητας,
- επαναληψιμότητα και ευαισθησία των χρησιμοποιουμένων αναλυτικών μεθόδων,
- ποσοστά ανάκτησης (τιμές % για μια έγκυρη μελέτη δίδονται στο 1.7.1),
- πίνακες αποτελεσμάτων εκφρασμένων ως % της αρχικά εφαρμοζόμενης δόσεως και, όπου κρίνεται σκόπιμο, ως $mg \cdot kg^{-1}$ εδάφους (επί ξηρού βάρους),
- ισοζύγιο μάζας κατά τη διάρκεια και στο τέλος των μελετών,
- χαρακτηρισμός μη εκχυλίσιμης (δεσμευμένης) ραδιενέργειας ή υπολειμμάτων στο έδαφος,
- ποσοτικός προσδιορισμός απελευθερωθέντος CO_2 και άλλων πτητικών ενώσεων,
- γραφικές παραστάσεις συγκεντρώσεων στο έδαφος συναρτήσει του χρόνου για την ουσία δοκιμής και, όπου κρίνεται σκόπιμο, για βασικά προϊόντα μετατροπής,
- χρόνος ημιζωής ή DT_{50} , DT_{75} και DT_{90} για την ουσία δοκιμής και, όπου κρίνεται σκόπιμο, για βασικά προϊόντα μετατροπής, συμπεριλαμβανομένων και ορίων εμπιστοσύνης,
- εκτίμηση της ταχύτητας αβιοτικής αποικοδόμησης υπό στείρες συνθήκες,
- εκτίμηση της κινητικής μετατροπής για την ουσία δοκιμής και, όπου κρίνεται σκόπιμο, για βασικά προϊόντα μετατροπής,
- προτεινόμενες πορείες μετατροπής, όπου κρίνεται σκόπιμο,
- συζήτηση και ερμηνεία αποτελεσμάτων,
- μη επεξεργασμένα δεδομένα (δηλ. χρωματογραφήματα δειγμάτων, υπολογισμοί ρυθμών μετατροπής και μέσα που χρησιμοποιήθηκαν για την ταυτοποίηση προϊόντων μετατροπής).

4 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

(1) US- Environmental Protection Agency (1982). Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision N. Chemistry: Environmental Fate.

(2) Agriculture Canada (1987). Environmental Chemistry and Fate. Guidelines for registration of pesticides in Canada.

(3) European Union (EU) (1995). Commission Directive 95/36/EC of 14 July 1995 amending Council Directive 91/414/EEC concerning the placing of plant protection products on the market. Annex II, Part A and Annex III, Part A: Fate and Behaviour in the Environment.

(4) Dutch Commission for Registration of Pesticides (1995). Application for registration of a pesticide. Section G: Behaviour of the product and its metabolites in soil, water and air.

(5) BBA (1986). Richtlinie für die amtliche Prüfung von Pflanzenschutzmitteln, Teil IV, 4-1. Verbleib von Pflanzenschutzmitteln im Boden - Abbau, Umwandlung und Metabolismus.

(6) ISO/DIS 11266-1 (1994). Soil Quality -Guidance on laboratory tests for biodegradation of organic chemicals in soil - Part 1 : Aerobic conditions.

(7) ISO 14239 (1997). Soil Quality – Laboratory incubation systems for measuring the mineralization of organic chemicals in soil under aerobic conditions.

(8) SETAC (1995). Procedures for Assessing the Environmental Fate and Ecotoxicity of Pesticides. Mark R. Lynch, Ed.

(9) MAFF - Japan 2000 - Draft Guidelines for transformation studies of pesticides in soil - Aerobic metabolism study in soil under paddy field conditions (flooded).

(10) OECD (1995). Final Report of the OECD Workshop on Selection of Soils/Sediments. Belgirate, Italy, 18-20 January 1995.

(11) Guth, J.A. (1980). The study of transformations. In Interactions between Herbicides and the Soil (R.J. Hance, Ed.), Academic Press, 123-157.

(12) DFG: Pesticide Bound Residues in Soil. Wiley – VCH (1998).

(13) T.R. Roberts: Non-extractable pesticide residue in soils and plants. Pure Appl. Chem. 56, 945-956 (IUPAC 1984)

(14) OECD Test Guideline 304 A: Inherent Biodegradability in Soil (adopted 12 May 1981)

(15) ISO 10381-6 (1993). Soil Quality - Sampling - Part 6: Guidance on the collection, handling and storage of soil for the assessment of aerobic microbial processes in the laboratory.

(16) Annex V to Dir. 67/548/EEC

(17) Guth, J.A. (1981). Experimental approaches to studying the fate of pesticides in soil. In Progress in Pesticide Biochemistry. D.H. Hutson, T.R. Roberts, Eds. J. Wiley & Sons. Vol 1, 85-114.

(18) Soil Texture Classification (US and FAO systems): Weed Science, 33, Suppl. 1 (1985) and Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 26:305 (1962).

(19) Methods of Soil Analysis (1986). Part 1, Physical and Mineralogical Methods. A. Klute, Ed.) Agronomy Series No 9, 2nd Edition.

(20) Methods of Soil Analysis (1982). Part 2, Chemical and Microbiological Properties. A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Kelney, Eds. Agronomy Series No 9, 2nd Edition.

(21) ISO Standard Compendium Environment (1994). Soil Quality - General aspects; chemical and physical methods of analysis; biological methods of analysis. First Edition.

(22) Mückenhausen, E. (1975). Die Bodenkunde und ihre geologischen, geomorphologischen, mineralogischen und petrologischen Grundlagen. DLG-Verlag, Frankfurt, Main.

(23) Scheffer, F., Schachtschabel, P. (1975). Lehrbuch der Bodenkunde. F. Enke Verlag, Stuttgart.

(24) Anderson, J.P.E., Domsch, K.H. (1978) A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. Soil Biol. Biochem. 10, 215-221.

(25) ISO 14240-1 and 2 (1997). Soil Quality - Determination of soil microbial biomass - Part 1: Substrate-induced respiration method. Part 2: fumigation-extraction method.

(26) Anderson, J.P.E. (1987). Handling and storage of soils for pesticide experiments. In Pesticide Effects on Soil Microflora. L. Somerville, M.P. Greaves, Eds. Taylor & Francis, 45-60.

(27) Kato, Yasuhiro. (1998). Mechanism of pesticide transformation in the environment: Aerobic and bio-transformation of pesticides in aqueous environment. Proceedings of the 16th Symposium on Environmental Science of Pesticide, 105-120.

(28) Keuken O., Anderson J.P.E. (1996). Influence of storage on biochemical processes in soil. In Pesticides, Soil Microbiology and Soil Quality, 59-63 (SETAC-Europe).

(29) Stenberg B., Johansson M., Pell M., Sjödahl-Svensson K., Stenström J., Torstensson L. (1996). Effect of freeze and cold storage of soil on microbial activities and biomass. In Pesticides, Soil Microbiology and Soil Quality, 68-69 (SETAC-Europe).

(30) Gennari, M., Negre, M., Ambrosoli, R. (1987). Effects of ethylene oxide on soil microbial content and some chemical characteristics. Plant and Soil 102, 197-200.

(31) Anderson, J.P.E. (1975). Einfluss von Temperatur und Feuchte auf Verdampfung, Abbau und Festlegung von Diallat im Boden. Z. PflKrankh Pflschutz, Sonderheft VII, 141-146.

(32) Hamaker, J.W. (1976). The application of mathematical modelling to the soil persistence and accumulation of pesticides. Proc. BCPC Symposium: Persistence of Insecticides and Herbicides, 181-199.

(33) Goring, C.A.I., Laskowski, D.A., Hamaker, J.W., Meikle, R.W. (1975). Principles of pesticide degradation in soil. In "Environmental Dynamics of Pesticides". R. Haque and V.H. Freed, Eds., 135-172.

(34) Timme, G., Frehse, H., Laska, V. (1986). Statistical interpretation and graphic representation of the degradational behaviour of pesticide residues. II. Pflanzenschutz - Nachrichten Bayer 39, 188-204.

(35) Timme, G., Frehse, H. (1980). Statistical interpretation and graphic representation of the degradational behaviour of pesticide residues. I. Pflanzenschutz - Nachrichten Bayer 33, 47-60.

(36) Gustafson D.I., Holden L.R. (1990). Non-linear pesticide dissipation in soil; a new model based on spatial variability. Environm. Sci. Technol. 24, 1032-1041.

(37) Hurle K., Walker A. (1980). Persistence and its prediction. In Interactions between Herbicides and the Soil (R.J. Hance, Ed.), Academic Press, 83-122.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1

ΤΑΣΗ ΝΕΡΟΥ, ΕΠΙΤΟΠΙΑ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ (FC) ΚΑΙ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΣΥΓΚΡΑΤΗΣΗΣ ΝΕΡΟΥ (WHC)(1)

Ύψος στήλης ύδατος [cm]	pF[(α)]	bar[(β)]	Παρατηρήσεις
10^7	7	10^4	Ξηρό έδαφος
$1.6 \cdot 10^4$	4.2	16	Σημείο μαρασμού
10^4	4	10	
10^3	3	1	
$6 \cdot 10^2$	2.8	0.6	
$3.3 \cdot 10^2$	2.5	0.33[(γ)]	
10^2	2	0.1	} Εύρος επιτόπιας ικανότητας[(δ)]
60	1.8	0.06	
33	1.5	0.033	
10	1	0.01	WHC (κατά προσέγγιση)
1	0	0.001	Κορεσμένο υδατικώς έδαφος

(α) pF = log της στήλης ύδατος σε cm.
(β) 1 bar = 10^5 Pa.
(γ) Αντιστοιχεί σε κατά προσέγγιση συγκέντρωση νερού 10% σε άμμο, 35% σε αργιλώδες έδαφος (loam) και 45% σε άργιλο.
(δ) Η επιτόπια ικανότητα δεν είναι σταθερή αλλά ποικίλει ανάλογα με τον τύπο του εδάφους μεταξύ pF 1,5 και 2,5.

Η τάση νερού μετριέται σε cm στήλης ύδατος ή σε bar. Λόγω του μεγάλου εύρους ρόφησης, η τάση εκφράζεται απλώς ως τιμή pF που ισοδυναμεί με το λογάριθμο της σε cm στήλης νερού.

Η επιτόπια ικανότητα ορίζεται ως η ποσότητα του νερού που μπορεί να αποθηκευτεί παρά τη βαρύτητα από ένα φυσικό έδαφος 2 ημέρες μετά από μεγαλύτερη περίοδο βροχόπτωσης ή μετά ικανή άρδευση. Προσδιορίζεται σε αδιατάρακτο έδαφος επί του πεδίου. Η μέτρηση δεν εφαρμόζεται συνεπώς σε εργαστηριακά δείγματα διαταραγμένου εδάφους. Οι προσδιοριζόμενες σε διαταραγμένα εδάφη τιμές FC μπορεί να εμφανίζουν μεγάλες συστηματικές διακυμάνσεις.

Η ικανότητα συγκράτησης νερού (WHC) προσδιορίζεται στο εργαστήριο με αδιατάρακτο και διαταραγμένο έδαφος με κορεσμό στήλης εδάφους από νερό μέσω τριχοειδικής μεταφοράς. Είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για διαταραγμένα εδάφη και μπορεί να είναι μέχρι 30% μεγαλύτερη από την επιτόπια ικανότητα (1). Είναι επίσης ευκολότερο να προσδιοριστεί πειραματικώς σε σχέση με τον προσδιορισμό αξιόπιστων τιμών FC.

(1) Mückenhausen, E. (1975). Die Bodenkunde und ihre geologischen, geomorphologischen, mineralogischen und petrologischen Grundlagen. DLG-Verlag, Frankfurt, Main.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2

ΥΓΡΑΣΙΕΣ (g νερού ανά 100 g ξηρού εδάφους) ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΤΥΠΩΝ ΕΔΑΦΩΝ ΑΠΌ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΧΩΡΕΣ

Τύπος εδάφους	Χώρα	Υγρασία εδάφους σε		
		WHC[1]	pF = 1.8	pF = 2.5
Άμμος	Γερμανία	28.7	8.8	3.9
Αργ. άμμος (Loamy sand)	Γερμανία	50.4	17.9	12.1
Αργ. άμμος (Loamy sand)	Ελβετία	44.0	35.3	9.2
Λασπώδες (Silt loam)	Ελβετία	72.8	56.6	28.4
Αργ. άργιλος (Clay loam)	Βραζιλία	69.7	38.4	27.3
Αργ. άργιλος (Clay loam)	Ιαπωνία	74.4	57.8	31.4
Αμμώδης άργ. (Sandy loam)	Ιαπωνία	82.4	59.2	36.0
Λασπώδες (Silt loam)	ΗΠΑ	47.2	33.2	18.8
Αμμώδης άργ. (Sandy loam)	ΗΠΑ	40.4	25.2	13.3

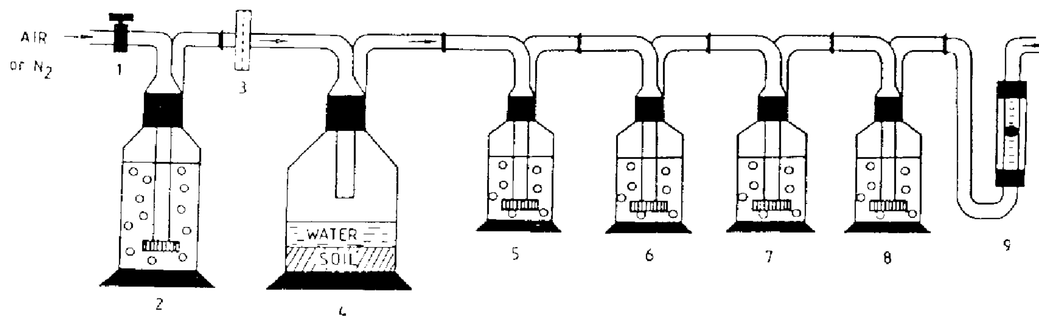
[1] Ικανότητα συγκράτησης νερού

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 3

Σχήμα 1

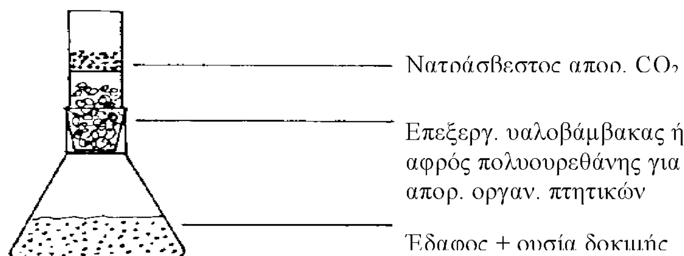
Παράδειγμα συσκευής διελεύσεως ροής για τη μελέτη της μετατροπής χημικών σε εδάφη (1)(2)

1: βελονοειδής βαλβίδα
2: φιάλη με νερό για την έκπλυση αερίων
3: υπερμεμβράνη (στείρες συνθήκες μόνο), μέγεθος πόρων 0.2 μm
4: φιάλη μεταβολισμού εδάφους (με επικαλυπτική στιβάδα νερού μόνο για αναερόβιες και συνθήκες ορυζώνα)
5: παγίδα αιθυλενογλυκόλης για οργανικές πτητικές ενώσεις
6: παγίδα θειικού οξέος για αλκαλικές πτητικές ενώσεις
7, 8: παγίδα υδροξειδίου του νατρίου γιαfor CO_2 & άλλα όξινα πτητικά
9: ροόμετρο



Σχήμα 2

Παράδειγμα βιομετρικής φιάλης για τη μελέτη της μετατροπής χημικών σε εδάφη (3)



(1) Guth, J.A. (1980). The study of transformations. In Interactions between Herbicides and the Soil (R.J. Hance, Ed.), Academic Press, 123-157.

(2) Guth, J.A. (1981). Experimental approaches to studying the fate of pesticides in soil. In Progress in Pesticide Biochemistry. D.H. Hutson, T.R. Roberts, Eds. J. Wiley & Sons. Vol 1, 85-114.

(3) Anderson, J.P.E. (1975). Einfluss von Temperatur und Feuchte auf Verdampfung, Abbau und Festlegung von Diallat im Boden. Z. PflKrankh Pflschutz, Sonderheft VII, 141-146.

Γ.24. ΑΕΡΟΒΙΑ ΚΑΙ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΜΕΤΑΤΡΟΠΗ ΣΕ ΥΔΑΤΙΚΑ ΙΖΗΜΑΤΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

1. ΜΕΘΟΔΟΣ

Η παρούσα μέθοδος δοκιμής είναι αναπαραγωγή της OECD TG 308 (2002).

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι χημικές ουσίες μπορούν να εισέλθουν σε ρηχά ή βαθέα ύδατα επιφανείας με διάφορους τρόπους όπως απ' ευθείας εισαγωγή, παρασυρόμενες ως ψεκάδες, απορροή, αποστράγγιση, διάθεση αποβλήτων, μέσω βιομηχανικών, αστικών ή αγροτικών εκροών και ατμοσφαιρική απόθεση. Στην παρούσα μέθοδο δοκιμής περιγράφεται εργαστηριακή μέθοδος εκτιμήσεως της αερόβιας και αναερόβιας μετατροπής οργανικών χημικών ουσιών σε υδατικά, ιζηματικά συστήματα. Βασίζεται σε υπάρχουσες κατευθυντήριες οδηγίες (1)(2)(3)(4)(5)(6). Σε συνάντηση ανταλλαγής απόψεων του ΟΟΣΑ σχετικά με την επιλογή εδαφών/ιζημάτων, η οποία έλαβε χώρα στην Belgirate στην Ιταλία το 1995 (7) επήλθε συμφωνία, ειδικότερα, για τον αριθμό και τον τύπο των προς χρήση ιζημάτων στην παρούσα δοκιμή. Διαμορφώθηκαν επίσης συστάσεις σχετικά με τη συλλογή, χειρισμό και αποθήκευση δειγμάτων ιζημάτων, βασιζόμενες στις οδηγίες ISO (8). Τέτοιου είδους μελέτες είναι απαραίτητες για χημικές ουσίες οι οποίες προστίθενται στο νερό ή που είναι πιθανόν να φθάσουν στο υδατικό περιβάλλον μέσω των οδών που περιγράφτηκαν ανωτέρω.

Οι συνθήκες στα φυσικά, υδατικά, ιζηματικά συστήματα είναι συχνά αερόβιες στην άνω υδατική φάση. Η επιφανειακή στιβάδα του ιζήματος μπορεί να είναι είτε αερόβια είτε αναερόβια, ενώ στο εσωτερικό του ιζήματος οι συνθήκες είναι συνήθως αναερόβιες. Στο παρόν περιγράφονται τόσο αερόβιες, όσο και αναερόβιες δοκιμές, ώστε να συμπεριληφθούν όλες αυτές οι πιθανότητες. Η αερόβιος δοκιμή αποτελεί προσομοίωση αερόβιας υδατικής στήλης πάνω από αερόβια ιζηματική στιβάδα, κάτω από την οποία βρίσκεται αναερόβια βαθμίδα. Η αναερόβια δοκιμή αποτελεί προσομοίωση πλήρως αναερόβιου συστήματος νερού-ιζήματος. Αν, λόγω περιστάσεων, πρέπει να υπάρξουν σημαντικές αποκλίσεις από αυτές τις συστάσεις, π.χ. λόγω χρήσεως άθικτων ιζηματικών πυρήνων ή ιζημάτων που μπορεί να έχουν εκτεθεί στην ουσία της δοκιμής, υπάρχουν για αυτό τον σκοπό άλλες διαθέσιμες μέθοδοι (9).

1.2 ΟΡΙΣΜΟΙ

Σε κάθε περίπτωση θα πρέπει να χρησιμοποιούνται οι μονάδες του Διεθνούς Συστήματος (SI).

Ουσία δοκιμής: κάθε ουσία , αρχική ή σχετικά προϊόντα μετατροπής.

Προϊόντα μετατροπής: όλες οι ουσίες που προκύπτουν από αντιδράσεις βιοτικής ή αβιοτικής μετατροπής της ουσίας δοκιμής, συμπεριλαμβανομένου του CO_2 και δεσμευμένων υπολειμμάτων.

Δεσμευμένα υπολείμματα: Ως "δεσμευμένα υπολείμματα" χαρακτηρίζονται ενώσεις στο έδαφος, σε φυτά ή σε ζώα, οι οποίες παραμένουν στο υπόστρωμα με τη μορφή της αρχικής ουσίας ή μεταβολιτών της μετά τις εκχυλίσεις. Η μέθοδος εκχυλίσεως δεν πρέπει να μεταβάλλει ουσιαστικώς αυτές καθ' αυτές τις ενώσεις ή τη δομή του υποστρώματος. Η φύση του δεσμού μπορεί να προσδιοριστεί εν μέρει με τη βοήθεια μεθόδων εκχυλίσεως που μεταβάλλουν το υπόστρωμα και εξειδικευμένες αναλυτικές τεχνικές. Μέχρι σήμερα, για παράδειγμα, έχουν ταυτοποιηθεί με τον τρόπο αυτό ομοιοπολικοί, ιονικοί και ροφητικοί δεσμοί, καθώς επίσης και παγιδεύσεις. Γενικά, ο σχηματισμός δεσμευμένων υπολειμμάτων μειώνει σημαντικώς τη βιοπροσβασιμότητα και βιοδιαθεσιμότητα (10) [τροποποίηση από IUPAC 1984 (11)].

Αερόβια μετατροπή: (οξειδωτική): αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα παρουσία μοριακού οξυγόνου (12).

Αναερόβια μετατροπή: (αναγωγική): αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα απουσία μοριακού οξυγόνου (12).

Φυσικά ύδατα: επιφανειακά ύδατα από λίμνες, ποταμούς, ρέματα, κλπ.

Ίζημα: μίγμα ανοργάνων και οργανικών χημικών συστατικών, εκ των οποίων τα οργανικά συστατικά περιέχουν ενώσεις με υψηλή περιεκτικότητα σε άνθρακα και άζωτο, ενώ ταυτοχρόνως διαθέτουν και υψηλή μοριακή μάζα. Αποτίθεται από φυσικά ύδατα και σχηματίζει επιφάνεια επαφής (διεπαφή) με τα εν λόγω ύδατα.

Ανοργανοποίηση: η πλήρης αποικοδόμηση μιας οργανικής ενώσεως σε CO_2, H_2O υπό αερόβιες συνθήκες και CH_4, CO_2 και H_2O υπό αναερόβιες συνθήκες. Στην παρούσα μέθοδο δοκιμής, όταν χρησιμοποιείται ραδιενεργώς επισημασμένη ένωση, ως ανοργανοποίηση ορίζεται η εκτεταμένη αποικοδόμηση ενός μορίου, κατά την οποία επισημασμένο άτομο άνθρακα οξειδώνεται ή ανάγεται ποσοτικώς με απελευθέρωση αντίστοιχης ποσότητας $^{14}CO_2$ ή $^{14}CH_4$.

Χρόνος ημιζωής, $t_{0.5}$, είναι ο χρόνος που απαιτείται για την κατά 50% μετατροπή της ουσίας δοκιμής, όταν η κινητική της αντιδράσεως μετατροπής είναι πρώτης τάξεως· είναι ανεξάρτητη της αρχικής συγκέντρωσης.

DT_{50} (Χρόνος μειώσεως 50): είναι το χρονικό διάστημα στο οποίο η αρχική συγκέντρωση της ουσίας δοκιμής μειώνεται κατά 50%.

DT_{75} (Χρόνος μειώσεως 75): είναι το χρονικό διάστημα στο οποίο η αρχική συγκέντρωση της ουσίας δοκιμής μειώνεται κατά 75%.

DT_{90} (Χρόνος μειώσεως 90): είναι το χρονικό διάστημα στο οποίο η αρχική συγκέντρωση της ουσίας δοκιμής μειώνεται κατά 90%.

1.3 ΟΥΣΙΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Για την ταυτοποίηση και ποσοτικό προσδιορισμό των προϊόντων μετατροπής με τη βοήθεια φασματοσκοπικών και χρωματογραφικών μεθόδων, πρέπει να χρησιμοποιούνται ουσίες αναφοράς.

1.4 ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΥΣΙΑ ΔΟΚΙΜΗΣ

Για τη μέτρηση της ταχύτητας μετατροπής μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε μη επισημασμένη, είτε επισημασμένη με ισότοπα ουσία δοκιμής.. Ωστόσο, προτιμάται η επισημασμένη με ισότοπα ουσία. Η επισημασμένη ουσία είναι απαραίτητη για τη μελέτη της πορείας μετατροπής και τον προσδιορισμό του ισοζυγίου μάζας. Συνιστάται η επισήμανση με ^{14}C, ωστόσο μπορεί να αποδειχθεί χρήσιμη και η χρήση άλλων ισοτόπων όπως ^{13}C, ^{15}N, ^{3}H, ^{32}P. Η επισήμανση θα πρέπει να γίνεται στο σταθερότερο ή σταθερότερα μέρη του μορίου[1], όσο αυτό είναι δυνατόν. Η χημική ή/και ραδιοχημική καθαρότητα της ουσίας δοκιμής πρέπει να είναι τουλάχιστον 95%.

Πριν από τη διεξαγωγή μιας δοκιμής, θα πρέπει να υπάρχουν διαθέσιμα τα ακόλουθα στοιχεία σχετικά με την ουσία δοκιμής:

(α) διαλυτότητα σε νερό (Μέθοδος Α.6)·

(β) διαλυτότητα σε οργανικούς διαλύτες·

(γ) τάση ατμών (Μέθοδος Α.4) και η σταθερά του νόμου του Henry·

(δ) συντελεστής κατανομής σε n-οκτανόλη/νερό (Μέθοδος Α.8)·

(ε) σταθερά προσροφήσεως (K_d, K_f ή K_{oc}, ανάλογα με την περίπτωση) (Μέθοδος Γ.18)·

(στ) υδρόλυση (Μέθοδος Γ.7)·

(ζ) σταθερά διαστάσεως (pK_a) [Οδηγία ΟΟΣΑ 112] (13)·

(η) χημική δομή της ουσίας δοκιμής και θέση του ή των ισοτόπων επισημάνσεως, εφόσον υπάρχουν.

Σημείωση: Πρέπει να αναφέρεται η θερμοκρασία στην οποία πραγματοποιήθηκαν οι εν λόγων μετρήσεις.

Άλλες χρήσιμες πληροφορίες μπορεί να είναι δεδομένα για την τοξικότητα της ουσίας δοκιμής στους μικροοργανισμούς, δεδομένα σχετικά με την άμεση ή/και εγγενή βιοαποικοδομησιμότητα και δεδομένα αερόβιας και αναερόβιας μετατροπής στο έδαφος.

[1] Για παράδειγμα, αν η ουσία περιέχει έναν δακτύλιο, απαιτείται επισήμανση στον δακτύλιο αυτό· αν η ουσία δοκιμής περιέχει δύο ή περισσοτέρους δακτυλίους, ίσως χρειαστεί η διεξαγωγή ξεχωριστών μελετών για την αξιολόγηση της τύχης κάθε επισημασμένου δακτυλίου και για τη λήψη καταλλήλων πληροφοριών για το σχηματισμό προϊόντων μετατροπής.

Θα πρέπει επίσης να υπάρχουν διαθέσιμες αναλυτικές μέθοδοι (συμπεριλαμβανομένων και μεθόδων εκχυλίσεως και καθαρισμού) για την ταυτοποίηση και ποσοτικό προσδιορισμό της ουσίας δοκιμής και των προϊόντων μετατροπής της στο νερό και στα ιζήματα (βλ. παράγραφο 1.7.2).

1.5 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΔΟΚΙΜΗΣ

Στην περιγραφόμενη στην παρούσα δοκιμή μέθοδο χρησιμοποιείται αερόβιο και αναερόβιο υδατικό ιζηματικό σύστημα (βλ. παράρτημα 1), το οποίο παρέχει τη δυνατότητα:
(i) μετρήσεως της ταχύτητας μετατροπής της ουσίας δοκιμής σε υδατικό ιζηματικό σύστημα,
(ii) μετρήσεως της ταχύτητας μετατροπής της ουσίας δοκιμής στο ίζημα,
(iii) μετρήσεως της ταχύτητας ανοργανοποιήσεως της ουσίας δοκιμής ή/και των προϊόντων μετατροπής της (όταν χρησιμοποιείται ουσία δοκιμής επισημασμένη με ^{14}C),
(iv) ταυτοποιήσεως και ποσοτικού προσδιορισμού των προϊόντων μετατροπής στην υδατική και ιζηματική φάση, συμπεριλαμβανομένου και του ισοζυγίου μάζας (όταν χρησιμοποιείται επισημασμένη ουσία),
(v) μετρήσεως της κατανομής της ουσίας δοκιμής και των προϊόντων μετατροπής της μεταξύ των δύο φάσεων, κατά τη διάρκεια περιόδου επωάσεως στο σκοτάδι (για την αποφυγή π.χ. υπερβολικής αύξησης αλγών) σε σταθερή θερμοκρασία. Οι τιμές του χρόνου ημιζωής, DT_{50}, DT_{75} και DT_{90} προσδιορίζονται όπου το δικαιολογούν τα δεδομένα, δεν θα πρέπει όμως να χρησιμοποιούνται στην εξαγωγή συμπερασμάτων για χρονικές περιόδους, οι οποίες απέχουν πολύ από το χρονικό διάστημα διεξαγωγής του πειράματος (βλέπε παράγραφο 1.2).

Τόσο για την αερόβια όσο και για την αναερόβια μελέτη είναι απαραίτητα τουλάχιστον δύο ιζήματα και τα αντίστοιχα ύδατά τους (7). Ωστόσο, μπορεί να υπάρξουν περιπτώσεις όπου να πρέπει να χρησιμοποιηθούν περισσότερα από δύο υδατικά ιζήματα, παραδείγματος χάριν για μια χημική ουσία που μπορεί να εμφανίζεται σε περιβάλλον τόσο γλυκού, όσο και θαλασσίου ύδατος.

1.6 ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Η μέθοδος εφαρμόζεται γενικά σε χημικές ουσίες (επισημασμένες ή μη) για τις οποίες υπάρχει διαθέσιμη αναλυτική μέθοδος ικανοποιητικής ακριβείας και ευαισθησίας. Εφαρμόζεται σε μη πτητικές ενώσεις, ελαφρώς πτητικές ενώσεις, υδατοδιαλυτές ενώσεις ή και σε ενώσεις με χαμηλή υδατοδιαλυτότητα. Η δοκιμή δεν θα πρέπει να εφαρμόζεται σε ιδιαιτέρως πτητικές από το νερό χημικές ουσίες (π.χ. ατμίζουσες, οργανικοί διαλύτες), οι οποίες δεν μπορούν έτσι να διατηρηθούν στο νερό ή/και στο ίζημα υπό τις πειραματικές συνθήκες της παρούσας δοκιμής.

Η μέθοδος εφαρμόζεται μέχρι στιγμής για τη μελέτη της μετατροπής χημικών ουσιών σε γλυκά ύδατα και ιζήματα, μπορεί όμως να εφαρμοσθεί κατ' αρχή και σε θαλάσσια συστήματα ή συστήματα υδάτων εκβολών ποταμών. Δεν είναι κατάλληλη για την προσομοίωση συνθηκών σε ρέοντα ύδατα (π.χ. ποταμοί) ή στην ανοιχτή θάλασσα.

1.7 ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΠΟΙΟΤΗΤΟΣ

1.7.1 **Ανάκτηση**

Από την εκχύλιση και ανάλυση διπλών, τουλάχιστον, δειγμάτων ύδατος και ιζήματος αμέσως μετά την προσθήκη της ουσίας δοκιμής, προκύπτει μια πρώτη ένδειξη της επαναληψιμότητας της αναλυτικής μεθόδου και της ομοιομορφίας της διαδικασίας εφαρμογής για την ουσία δοκιμής. Οι τιμές ανάκτησης σε μεταγενέστερα στάδια των πειραμάτων προκύπτουν από τα αντίστοιχα ισοζύγια μάζας (όταν χρησιμοποιείται επισημασμένη ουσία). Τα ποσοστά ανάκτησης θα πρέπει να κυμαίνονται από 90 έως 110% για επισημασμένες χημικές ουσίες (6) και από 70 έως 110% για μη επισημασμένες χημικές ουσίες.

1.7.2 **Επαναληψιμότητα και ευαισθησία της αναλυτικής μεθόδου**

Η επαναληψιμότητα της αναλυτικής μεθόδου (μη συμπεριλαμβανομένης της αποδοτικότητας της αρχικής εκχυλίσεως), όσον αφορά τον ποσοτικό προσδιορισμό της ουσίας δοκιμής και των προϊόντων μετατροπής, μπορεί να ελεγχθεί με τη βοήθεια διπλής αναλύσεως του ίδιου εκχυλίσματος των δειγμάτων νερού ή ιζήματος, τα οποία έχουν επωαστεί για ικανό χρονικό διάστημα για το σχηματισμό προϊόντων μετατροπής.

Το όριο ανιχνεύσεως (LOD) της αναλυτικής μεθόδου για την ουσία δοκιμής και για τα προϊόντα μετατροπής θα πρέπει να είναι τουλάχιστον 0.01 $mg \cdot kg^{-1}$ στο νερό ή στο ίζημα (ως ουσία δοκιμής) ή 1% της αρχικής ποσότητας που χρησιμοποιήθηκε στο σύστημα δοκιμής, όποια τιμή από τις δύο είναι χαμηλότερη. Θα πρέπει επίσης να προσδιορίζεται και το όριο του ποσοτικού προσδιορισμού (LOQ).

1.7.3 **Ακρίβεια δεδομένων μετατροπής**

Από την ανάλυση αναγωγής των συγκεντρώσεων της ουσίας δοκιμής ως συνάρτησης του χρόνου, προκύπτουν τα σχετικά στοιχεία για την ακρίβεια της καμπύλης μετατροπής και είναι δυνατός ο υπολογισμός των ορίων εμπιστοσύνης για τους χρόνους ημιζωής (αν ισχύει κινητική ψευδο-πρώτης τάξως) ή τις τιμές DT_{50} και, όπου κρίνεται σκόπιμο, DT_{75} και DT_{90}.

1.8 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

1.8.1 **Σύστημα δοκιμής και εξοπλισμός**

Η μελέτη πρέπει να διεξάγεται σε υάλινους περιέκτες (π.χ. φιάλες, σωλήνες φυγοκεντρήσεως), εκτός και αν από προγενέστερα στοιχεία (όπως π.χ. σταθερά κατανομής σε n-οκτανόλη/νερό, δεδομένα ροφήσεως, κλπ.) προκύπτει ότι η ουσία δοκιμής μπορεί να κολλήσει στο γυαλί, οπότε και χρησιμοποιείται εναλλακτικό υλικό (π.χ. Teflon). Όταν είναι γνωστό ότι η ουσία δοκιμής κολλά στο γυαλί, το πρόβλημα μπορεί να επιλυθεί με χρήση μιας ή περισσοτέρων από τις ακόλουθες μεθόδους:

— προσδιορισμός της μάζας της ουσίας δοκιμής και των προϊόντων μετατροπής της που ροφώνται στο γυαλί·

— διεξοδική έκπλυση με διαλύτη όλων των υάλινων σκευών μετά το πέρας της δοκιμής·

— χρήση τυποποιημένων από πλευράς συστάσεως προϊόντων (βλ. επίσης παράγραφο 1.9.2)·

— χρήση αυξημένης ποσότητας συνδιαλύτη για την προσθήκη της ουσίας δοκιμής στο σύστημα· αν χρησιμοποιείται συνδιαλύτης, θα πρέπει να είναι τέτοιος ώστε να μην αντιδρά με την ουσία δοκιμής.

Παραδείγματα συνήθους εξοπλισμού δοκιμής, δηλ. συστημάτων διελεύσεως ροής και τύπου βιομέτρου, παρουσιάζονται στα παραρτήματα 2 και 3, αντιστοίχως (14). Άλλα χρήσιμα συστήματα επωάσεως περιγράφονται στη βιβλιογραφική αναφορά 15. Η σχεδίαση του πειραματικού εξοπλισμού θα πρέπει να είναι τέτοια που να επιτρέπει την ανταλλαγή αέρα ή αζώτου και την παγίδευση των πτητικών προϊόντων. Οι διαστάσεις του εξοπλισμού πρέπει να είναι τέτοιες ώστε να είναι συμβατές με τις απαιτήσεις της δοκιμής (βλέπε παράγραφο 1.9.1). Ο αερισμός μπορεί να γίνεται είτε με ήπια παραγωγή φυσαλίδων, είτε με διοχέτευση αέρα ή αζώτου πάνω από την επιφάνεια του ύδατος. Στην τελευταία περίπτωση, μπορεί να είναι σκόπιμη η ήπια ανάδευση του ύδατος από πάνω για καλύτερη διανομή του οξυγόνου ή του αζώτου σε αυτό. Δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται απηλλαγμένος CO_2 αέρας, καθώς αυτό μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα αύξηση του pH του νερού. Ασχέτως περιπτώσεως, η διατάραξη του ιζήματος είναι ανεπιθύμητη και θα πρέπει κατά το δυνατόν να αποφεύγεται. Οι ελαφρώς πτητικές χημικές ουσίες θα πρέπει να δοκιμάζονται σε σύστημα τύπου βιομέτρου με ήπια ανάδευση της επιφανείας του ύδατος. Για την παγίδευση των πτητικών προϊόντων, μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν κλειστά δοχεία με ατμοσφαιρικό αέρα ή άζωτο στο πάνω μέρος και εσωτερικά φιαλίδια (16). Κατά την αερόβια δοκιμή είναι απαραίτητη η τακτική ανανέωση του υπερκειμένου αερίου, ώστε να αντισταθμίζεται η κατανάλωση οξυγόνου από τη βιομάζα.

Στις κατάλληλες παγίδες για τη συλλογή πτητικών προϊόντων μετατροπής περιλαμβάνονται, χωρίς η παράθεση αυτή να είναι περιοριστική, διαλύματα υδροξειδίου του καλίου ή υδροξειδίου του νατρίου 1 $mol \cdot dm^{-3}$ για το διοξείδιο του άνθρακα([2]) και αιθυλενογλυκόλης, αιθανολαμίνης ή παραφίνης 2% σε ξυλόλιο για οργανικές ενώσεις. Τα πτητικά προϊόντα που σχηματίζονται υπό αναερόβιες συνθήκες, όπως μεθάνιο, μπορούν να συλλέγονται για παράδειγμα με μοριακά κόσκινα. Τα εν λόγω πτητικά προϊόντα μπορούν να καίγονται προς, π.χ., CO_2, με διοχέτευση του αερίου μέσα από σωλήνα χαλαζία πλήρη CuO σε θερμοκρασία 900 °C και παγίδευση του σχηματιζόμενου CO_2 σε απορροφητικό μέσο με άλκαλι (17).

[2] Επειδή τα αλκαλικά αυτά διαλύματα απορροφήσεως απορροφούν και το διοξείδιο του άνθρακα που προέρχεται από τον αερισμό, καθώς και εκείνο που σχηματίζεται από την αναπνοή στα αερόβια πειράματα, πρέπει να αλλάζονται σε τακτά χρονικά διαστήματα για να αποφεύγεται ο κορεσμός τους και κατά συνέπεια η απώλεια της απορροφητικής τους ικανότητας.

Απαιτείται, επίσης, εργαστηριακός εξοπλισμός για τη χημική ανάλυση της ουσίας δοκιμής και των προϊόντων μετατροπής (π.χ. αέρια υγρή χρωματογραφία (GLC), υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC), χρωματογραφία λεπτής στιβάδος (TLC), φασματοσκοπία μάζας (MS), αέρια χρωματογραφία-φασματοσκοπία μάζας (GS-MS), υγρή χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (LC-MS), πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός (NMR) κλπ.), ενώ απαιτούνται, κατά περίπτωση, και συστήματα ανιχνεύσεως ραδιοεπισημασμένων ή μή χημικών ουσιών. Όταν χρησιμοποιείται ραδιοεπισημασμένη ουσία, απαιτείται επίσης υγρός απαριθμητής σπινθηρισμών και οξειδωτής δια καύσεως (για την καύση ιζηματικών δειγμάτων πριν από τον προσδιορισμό της ραδιενέργειας).

Απαιτείται και άλλος συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός για φυσικοχημικούς και βιολογικούς προσδιορισμούς (βλ. Πίνακα 1, παράγραφος 1.8.2.2), γυάλινα σκεύη, χημικές ουσίες και αντιδραστήρια, κατά περίπτωση.

1.8.2 **Επιλογή και αριθμός των υδατικών ιζημάτων**

Οι τοποθεσίες δειγματοληψίας πρέπει να επιλέγονται σύμφωνα με το σκοπό της δοκιμής στην εκάστοτε περίπτωση. Κατά την επιλογή τόπων δειγματοληψίας, πρέπει να λαμβάνονται υπόψη το πιθανώς υπάρχον ιστορικό γεωργικών, βιομηχανικών ή αστικών εισροών στο υδροφόρο στρώμα και τις πηγές του νερού. Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ιζήματα αν αυτά έχουν προηγουμένως επιμολυνθεί με την ουσία δοκιμής ή με δομικά της ανάλογα μέσα στα προηγούμενα 4 χρόνια.

1.8.2.1 *Επιλογή ιζήματος*

Για τις αερόβιες μελέτες χρησιμοποιούνται συνήθως δύο ιζήματα (7). Τα δύο επιλεγόμενα ιζήματα θα πρέπει να διαφέρουν στην περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα και στην υφή. Το ένα ίζημα θα πρέπει να έχει υψηλή περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα (2,5-7,5%) και λεπτή υφή ενώ το άλλο θα πρέπει να έχει χαμηλή περιεκτικότητας σε οργανικό άνθρακα (0.5-2.5%) και τραχεία υφή. Η διαφορά μεταξύ περιεκτικοτήτων σε οργανικό άνθρακα θα πρέπει κανονικά να είναι τουλάχιστον 2%. "Λεπτή υφή" θεωρείται όταν η περιεκτικότητα σε [άργιλο + ιλύ][3] είναι μεγαλύτερη του 50%, ενώ "τραχεία δομή" όταν η περιεκτικότητα σε [άργιλο + ιλύ] είναι μικρότερη του 50%. Η διαφορά μεταξύ περιεκτικοτήτων σε [άργιλο + ιλύ] των δύο ιζημάτων πρέπει κανονικά να είναι τουλάχιστον 20%. Στις περιπτώσεις όπου μια χημική ουσία είναι δυνατόν να φθάσει και σε θαλάσσια ύδατα, τουλάχιστον ένα εκ των συστημάτων νερού-ιζήματος θα πρέπει να προέρχεται από τη θάλασσα.

Για την αυστηρώς αναερόβια μελέτη, θα πρέπει να γίνεται δειγματοληψία δύο ιζημάτων (συμπεριλαμβανομένων και των αντιστοίχων υδάτων) από τις αναερόβιες ζώνες επιφανειακών υδάτων (7). Ο χειρισμός και μεταφορά της ιζηματικής και υδατικής φάσεως θα πρέπει να γίνεται προσεκτικά, απουσία οξυγόνου.

Υπάρχουν και άλλες παράμετροι που μπορεί να παίζουν σημαντικό ρόλο στην επιλογή των ιζημάτων και οι οποίες θα πρέπει να εξετάζονται κατά περίπτωση. Για παράδειγμα, το εύρος του pH των ιζημάτων παίζει σημαντικό ρόλο στη δοκιμή χημικών ουσιών η μετατροπή ή/και ρόφηση των οποίων μπορεί να εξαρτάται από το pH. Η εξάρτηση της ροφήσεως από το pH μπορεί να αντικατοπτρίζεται από την pK_a της ουσίας δοκιμής.

1.8.2.2 *Χαρακτηρισμός δειγμάτων νερού - ιζήματος*

Στον πίνακα που ακολουθεί, παρατίθενται καίριες παράμετροι που πρέπει να μετρούνται και να αναφέρονται (σχετικώς με τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο) τόσο για το νερό, όσο και για το ίζημα, καθώς και το στάδιο της δοκιμής κατά το οποίο πρέπει οι παράμετροι αυτοί να προσδιορίζονται. Μέθοδοι προσδιορισμού των εν λόγω παραμέτρων μπορεί κανείς να βρεί στις βιβλιογραφικές αναφορές (18)(19)(20)(21).

Επιπροσθέτως, μπορεί κατά περίπτωση να είναι απαραίτητη η μέτρηση και αναφορά και άλλων παραμέτρων (π.χ. για γλυκά ύδατα: σωματίδια, αλκαλικότητα, σκληρότητα, αγωγιμότητα, NO_3/PO_4 (λόγος συγκεντρώσεων και επιμέρους τιμές)· για ιζήματα: κατιοανταλλακτική ικανότητα, ικανότητα κατακράτησης ύδατος, ανθρακικά, ολικό άζωτο και φωσφόρος· και για θαλάσσια συστήματα: αλατότητα). Η ανάλυση ιζημάτων και υδάτων για νιτρικά, θειϊκά, βιοδιαθέσιμο σίδηρο και πιθανώς και άλλους υποδοχείς ηλεκτρονίων, μπορεί να αποδειχθεί επίσης χρήσιμη στον προσδιορισμό οξειδοαναγωγικών συνθηκών, ιδιαιτέρως όσον αφορά την αναερόβια μετατροπή.

[3] [Άργιλος + ιλύς] είναι το ανόργανο κλάσμα του ιζήματος με μέγεθος σωματιδίων μικρότερο από 50 μm

Μέτρηση παραμέτρων για το χαρακτηρισμό δειγμάτων νερού-ιζήματος (7)(22)(23)

Παράμετρος	**Στάδιο διαδικασίας δοκιμής**					
	Τόπος δειγματοληψίας	**Χειρισμός μετά τη δειγματοληψία**	**Έναρξη εγκλιματισμού**	**Έναρξη της δοκιμής**	**Κατά τη διάρκεια της δοκιμής**	**Τέλος δοκιμής**
Ύδωρ						
Πηγή/προέλευση	x					
Θερμοκρασία	x					
PH	x		x	x	x	x
TOC			x	x		x
Συγκέντρωση O_2*	x		x	x	x	x
Δυναμικό οξειδοαναγωγής*			x	x	x	x
Ίζημα						
Πηγή/προέλευση	x					
Βάθος στιβάδας	x					
PH		x	x	x	x	x
Κατανομή μεγέθους σωματιδίων		x				
TOC		x	x	x		x
Μικροβιακή βιομάζα**		x		x		x
Δυναμικό οξειδοαναγωγής *	Παρατήρηση (χρώμα/οσμή)		x	x	x	x

* Από πρόσφατα αποτελέσματα ερευνών προέκυψε ότι οι τιμές των μετρήσεων συγκεντρώσεως οξυγόνου στο νερό και των δυναμικών οξειδοαναγωγής δεν έχουν ούτε μηχανιστική ούτε προβλεπτική αξία όσον αφορά την αύξηση και ανάπτυξη μικροβιακών πληθυσμών σε επιφανειακά ύδατα. (24)(25). Ο προσδιορισμός του βιοχημικώς απαιτουμένου οξυγόνου (BOD, κατά τη δειγματοληψία, την έναρξη και τη λήξη της δοκιμής) και των συγκεντρώσεων μικρο/μακρο θρεπτικών στοιχείων Ca, Mg και Mn (κατά την έναρξη και τη λήξη της δοκιμής) στο νερό και η μέτρηση του συνολικού N και συνολικού P στα ιζήματα (κατά τη δειγματοληψία και τη λήξη της δοκιμής) μπορεί να αποτελούν καλύτερα εργαλεία ερμηνείας και αξιολογήσεως της ταχύτητας και των οδών της αεροβίου βιομετατροπής.

** Μέθοδος ταχύτητας μικροβιακής αναπνοής (26), μέθοδος καπνισμού (27) ή μετρήσεις αποικιών σε τρυβλίο (π.χ. βακτήρια, ακτινομήκυτες, μήκυτες και συνολικές αποικίες) για αερόβιες μελέτες· ταχύτητα μεθανογενέσεως για αναερόβιες μελέτες.

1.8.3 **Συλλογή, χειρισμός και αποθήκευση**

1.8.3.1 *Συλλογή*

Για τη δειγματοληψία ιζημάτων θα πρέπει να χρησιμοποιείται το σχέδιο της κατευθυντήριας οδηγίας ISO για τη δειγματοληψία ιζημάτων του πυθμένα (8). Τα δείγματα ιζήματος θα πρέπει να λαμβάνονται από την όλη πάχους 5-10 cm άνω ιζηματική στιβάδα. Εκτός του ιζήματος, από την ίδια τοποθεσία ή σημείο και κατά τον ίδιο χρόνο θα πρέπει να συλλέγονται δείγματα του σχετικού με το ίζημα ύδατος. Για την αναερόβια μελέτη, η δειγματοληψία και η μεταφορά των ιζημάτων και αντιστοίχων υδάτων πρέπει να γίνεται απουσία οξυγόνου (28)(βλέπε παράγραφο 1.8.2.1). Στη βιβλιογραφία περιγράφονται μερικές συσκευές δειγματοληψίας (8)(23).

1.8.3.2 *Χειρισμός*

Το ίζημα διαχωρίζεται με διήθηση από τα ύδατα και διέρχεται σε υγρή κατάσταση από κόσκινο 2 mm με τη βοήθεια περίσσειας ύδατος της αντιστοίχου τοποθεσίας, το οποίο στη συνέχεια απορρίπτεται. Εν συνεχεία αναμιγνύονται γνωστές ποσότητες ιζήματος και ύδατος στην επιθυμητή αναλογία (βλ. παράγραφο 1.9.1) σε φιάλες επωάσεως και προετοιμάζονται για την περίοδο εγκλιματισμού (βλ. παράγραφο 1.8.4). Στην περίπτωση της αναεροβίου μελέτης, όλα τα στάδια του χειρισμού πρέπει να διεξάγονται απουσία οξυγόνου (29)(30)(31)(32)(33).

1.8.3.3 *Αποθήκευση*

Συνιστάται έντονα η χρήση δειγμάτων ιζήματος και ύδατος που έχουν συλλεγεί πρόσφατα, αν ωστόσο είναι απαραίτητη η αποθήκευση, τότε ίζημα και νερό θα πρέπει να διέρχονται από κόσκινο ως περιγράφεται ανωτέρω και να αποθηκεύονται μαζί, υπό κατάκλυση με νερό (υδατική στιβάδα πάχους 6-10 cm), στο σκοτάδι, στους 4 ± 2^{o}C[4] για χρονικό διάστημα το πολύ μέχρι 4 εβδομάδες (7)(8)(23). Τα δείγματα που θα χρησιμοποιηθούν για αερόβια μελέτη θα πρέπει να αποθηκεύονται έτσι ώστε να επιτρέπεται η ελεύθερη δίοδος του αέρα (π.χ. σε ανοιχτούς περιέκτες), ενώ τα αντίστοιχα δείγματα που θα χρησιμοποιηθούν για αναερόβια μελέτη, πρέπει να αποθηκεύονται απουσία οξυγόνου. Κατά τη διάρκεια της μεταφοράς και αποθηκεύσεως των δειγμάτων, δεν πρέπει τα δείγματα ιζήματος και νερού να καταψύχονται και το ίζημα να ξηραίνεται.

1.8.4 **Προετοιμασία των δειγμάτων ιζήματος/ύδατος για τη δοκιμή**

Πριν από την προσθήκη της ουσίας δοκιμής, πρέπει να προηγείται μια περίοδος εγκλιματισμού, όπου κάθε δείγμα ιζήματος/ύδατος τοποθετείται στο δοχείο επωάσεως που θα χρησιμοποιηθεί στην κυρίως δοκιμή και ο εγκλιματισμός πραγματοποιείται υπό τις ίδιες ακριβώς συνθήκες όπως και στην επώαση (βλ. παράγραφο 1.9.1). Η περίοδος εγκλιματισμού είναι ο χρόνος που απαιτείται για την επίτευξη λογικής σταθερότητας στο σύστημα, όσον αφορά το pH, τη συγκέντρωση οξυγόνου στο νερό, το δυναμικό οξειδοαναγωγής του ύδατος και του ιζήματος και το μακροσκοπικό διαχωρισμό των φάσεων. Η περίοδος εγκλιματισμού διαρκεί κανονικά από μια έως δύο εβδομάδες και δεν θα πρέπει να υπερβαίνει τις τέσσερις εβδομάδες. Αποτελέσματα προσδιορισμών που διεξήχθησαν κατά τη διάρκεια της εν λόγω περιόδου πρέπει να αναφέρονται.

1.9 ΕΚΤΕΛΕΣΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

1.9.1 **Συνθήκες δοκιμής**

Η δοκιμή θα πρέπει να εκτελείται στη συσκευή επωάσεως (βλ. παράγραφο 1.8.1) με λόγο όγκων ύδατος/ιζήματος μεταξύ 3:1 και 4:1 και πάχος στιβάδας ιζήματος 2,5 cm (± 0.5 cm)([4]). Η ελάχιστη ποσότητα ιζήματος (σε ξηρή κατάσταση) που συνιστάται για κάθε δοχείο επωάσεως είναι τα 50 γρ.

Η δοκιμή θα πρέπει να διεξάγεται στο σκοτάδι υπό σταθερή θερμοκρασία στην περιοχή από 10 έως 30 ^{o}C. Ενδείκνυται θερμοκρασία της τάξεως των (20 ± 2) ^{o}C. Εφόσον κριθεί σκόπιμο, μπορεί να εξεταστεί κατά περίπτωση και μια πρόσθετη χαμηλότερη θερμοκρασία (π.χ. 10 C), ανάλογα με τις πληροφορίες που απαιτούνται από τη δοκιμή. Η θερμοκρασία επωάσεως θα πρέπει να παρακολουθείται και να αναφέρεται στην έκθεση.

---

[4] Από πρόσφατες μελέτες έχει αποδειχθεί ότι η αποθήκευση στους 4 ^{o}C μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της περιεκτικότητας σε οργανικό άνθρακα του ιζήματος, με πιθανή συνέπεια ελάττωση της μικροβιακής δράσεως (34).

1.9.2 **Επεξεργασία και εφαρμογή της ουσίας δοκιμής**

Χρησιμοποιείται μία συγκέντρωση δοκιμής της χημικής ουσίας([5]). Για χημικές ουσίες προστασίας καλλιεργειών που χρησιμοποιούνται απ' ευθείας σε υδάτινα περιβάλλοντα, ως μέγιστο ποσοστό εφαρμογής θα πρέπει να λαμβάνεται η μέγιστη δόση που αναφέρεται στην ετικέτα, υπολογιζόμενο βάσει του εμβαδού της επιφανείας του ύδατος στο δοχείο δοκιμής. Σε όλες τις υπόλοιπες περιπτώσεις, η προς χρήση συγκέντρωση θα πρέπει να βασίζεται σε προβλέψεις από περιβαλλοντικές εκπομπές. Πρέπει επίσης να λαμβάνεται μέριμνα, ώστε να διασφαλίζεται η εφαρμογή μιας ενδεδειγμένης συγκέντρωσης της ουσίας δοκιμής, που να χαρακτηρίζει την οδό μετατροπής και τον σχηματισμό και αποσύνθεση των προϊόντων μετατροπής. Μπορεί να είναι αναγκαία η χρήση μεγαλυτέρων δόσεων (π.χ. 10 φορές) σε περιπτώσεις όπου οι συγκεντρώσεις της ουσίας δοκιμής είναι πολύ κοντά στα όρια ανιχνεύσεως κατά την έναρξη της μελέτης ή/και όπου βασικά προϊόντα μετατροπής δεν μπορούν να ανιχνευθούν εύκολα όταν είναι παρόντα σε ποσοστό 10% του ποσοστού εφαρμογής της ουσίας δοκιμής. Ωστόσο αν χρησιμοποιηθούν υψηλότερες συγκεντρώσεις δοκιμής, αυτό δεν θα πρέπει να επιδρά αρνητικά στη μικροβιακή δραστικότητα του συστήματος νερό-ίζημα. Για να επιτευχθεί σταθερή συγκέντρωση της ουσίας δοκιμής σε δοχεία με διαφορετικές διαστάσεις, μπορεί να κριθεί σκόπιμη κάποια προσαρμογή της ποσότητας της εφαρμοζόμενης ουσίας, με βάση το βάθος της υδάτινης στήλης στο δοχείο σε σχέση με το βάθος του ύδατος στην τοποθεσία δειγματοληψίας (που υποτίθεται ότι είναι 100 cm, μπορούν όμως να χρησιμοποιηθούν και άλλα βάθη). Για ένα παράδειγμα υπολογισμού, βλ. παράρτημα 4.

Θεωρητικώς, η ουσία δοκιμής θα πρέπει να εφαρμόζεται ως υδατικό διάλυμα στην υδατική φάση του συστήματος δοκιμής. Αν δεν μπορεί να γίνει διαφορετικά, επιτρέπεται η χρήση μικρή ποσοτήτων αναμίξιμων με το νερό διαλυτών (όπως ακετόνη, αιθανόλη) για την εφαρμογή και κατανομή της ουσίας δοκιμής, δεν πρέπει όμως να υπερβαίνουν το 1% κ.ο. ενώ δεν πρέπει να έχουν αρνητικές επιπτώσεις στη μικροβιακή δραστικότητα του συστήματος δοκιμής. Πρέπει να δίδεται ιδιαίτερη προσοχή στη δημιουργία του υδατικού διαλύματος της ουσίας δοκιμής – για τη διασφάλιση πλήρους ομοιογένειας, μπορεί να είναι σκόπιμη η χρήση στηλών παραγωγής και προανάμειξη. Μετά την προσθήκη του υδατικού διαλύματος στο σύστημα δοκιμής, συνιστάται ήπια ανάδευση της υδατικής φάσεως, με την ελάχιστη δυνατή ανατάραξη του ιζήματος.

Η χρήση τυποποιημένων προϊόντων δεν συνιστάται συνήθως καθώς τα συστατικά του παρασκευάσματος μπορεί να επηρεάζουν την κατανομή της ουσίας δοκιμής ή/και των προϊόντων μετατροπής μεταξύ υδατικής και ιζηματικής φάσεως. Ωστόσο, για ουσίες δοκιμής με μικρή διαλυτότητα στο νερό, η χρήση τυποποιημένου υλικού μπορεί να αποτελέσει μια κατάλληλη εναλλακτική λύση.

Ο αριθμός των δοχείων επωάσεως εξαρτάται από τον αριθμό των χρόνων δειγματοληψίας (βλ. παράγραφο 1.9.3). Πρέπει να χρησιμοποιείται ικανός αριθμός συστημάτων δοκιμής, έτσι ώστε για κάθε χρόνο δειγματοληψίας να μπορούν να αναλίσκονται δύο συστήματα δοκιμής. Όπου χρησιμοποιούνται μονάδες ελέγχου του κάθε υδατικού ιζηματικού συστήματος, αυτές δεν θα πρέπει να έχουν κατεργαστεί με την ουσία δοκιμής. Οι μονάδες ελέγχου μπορούν να χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της μικροβιακής βιομάζας του ιζήματος και του συνολικού οργανικού άνθρακα του ύδατος και του ιζήματος κατά τη λήξη της μελέτης. Δύο από τις μονάδες ελέγχου (δηλ. μια μονάδα ελέγχου από κάθε υδατικό ίζημα) μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παρακολούθηση των απαιτουμένων παραμέτρων στο ίζημα και στο νερό κατά τη διάρκεια της περιόδου εγκλιματισμού (βλ. πίνακα στην παράγραφο 1.8.2.2). Στην περίπτωση όπου η ουσία δοκιμής εφαρμόζεται με τη βοήθεια διαλύτη, πρέπει να περιλαμβάνονται δύο ακόμη μονάδες ελέγχου για την μέτρηση τυχόν δυσμενών επιδράσεων στη μικροβιακή δραστικότητα του συστήματος δοκιμής.

1.9.3 **Διάρκεια δοκιμής και δειγματοληψία**

Η διάρκεια του πειράματος δεν θα πρέπει κανονικά να υπερβαίνει τις 100 ημέρες (6) και θα πρέπει να συνεχίζεται μέχρις ότου είτε να εξακριβωθεί η πορεία αποικοδομήσεως και ο τρόπος κατανομής ύδατος/ιζήματος, είτε να έχει αναλωθεί λόγω μετατροπής ή/και απομάκρυνσης λόγω πτητικότητας το 90% της ουσίας δοκιμής. Ο αριθμός των χρόνων δειγματοληψίας πρέπει να είναι τουλάχιστον έξι (συμπεριλαμβανομένου και του χρόνου μηδέν), χρησιμοποιώντας ενδεχομένως για τον καθορισμό του ενδεδειγμένου καθεστώτος δειγματοληψίας και της διάρκειας της δοκιμής μια προαιρετική προκαταρκτική μελέτη (βλ. παράγραφο 1.9.4), εκτός και αν υπάρχουν διαθέσιμα επαρκή δεδομένα από προηγούμενες μελέτες. Για υδρόφοβες ουσίες δοκιμής, μπορεί να χρειάζονται πρόσθετα σημεία δειγματοληψίας κατά τη διάρκεια της αρχικής περιόδου της μελέτης, προκειμένου να προσδιοριστεί ο λόγος κατανομής μεταξύ των φάσεων του νερού και του ιζήματος.

---

[5] Η δοκιμή με δεύτερη συγκέντρωση μπορεί να είναι χρήσιμη για χημικές ουσίες που φθάνουν τα επιφανειακά ύδατα μέσω διαφορετικών οδών εισαγωγής, με αποτέλεσμα σημαντικώς διαφορετικές συγκεντρώσεις, εφ' όσον βέβαια η μικρότερη συγκέντρωση μπορεί να αναλυθεί με ικανοποιητική ακρίβεια.

Σε κατάλληλα χρονικά σημεία δειγματοληψίας, ολόκληρα δοχεία επωάσεως (επαναληπτικά) απομακρύνονται προς ανάλυση. Το ίζημα και το υπερκείμενο νερό αναλύονται ξεχωριστά[6]. Το υπερκείμενο νερό θα πρέπει να απομακρύνεται προσεκτικά, με την ελάχιστη δυνατή ανατάραξη του ιζήματος. Η εκχύλιση και ο χαρακτηρισμός της ουσίας δοκιμής και των προϊόντων μετατροπής πρέπει να γίνονται με κατάλληλες αναλυτικές μεθόδους. Θα πρέπει να λαμβάνεται μέριμνα για την απομάκρυνση τυχόν υλικού που μπορεί να έχει προσροφηθεί στο δοχείο επωάσεως ή σε σωληνώσεις διασύνδεσης που χρησιμοποιούνται για την παγίδευση των πτητικών ουσιών.

1.9.4 **Προαιρετική προκαταρκτική δοκιμή**

Αν από άλλες σχετικές μελέτες δεν είναι δυνατόν να προσδιοριστεί διάρκεια και καθεστώς δειγματοληψίας για την ουσία δοκιμής, μπορεί να κριθεί σκόπιμη η διεξαγωγή προαιρετικής προκαταρκτικής δοκιμής, η οποία θα πρέπει να διεξάγεται υπό τις ίδιες συνθήκες δοκιμής που προτείνονται για την οριστική μελέτη. Οι σχετικές πειραματικές συνθήκες και τα αποτελέσματα της προκαταρκτικής δοκιμής, εφόσον γίνει, πρέπει να αναφέρονται εν συντομία στην έκθεση.

1.9.5 **Μετρήσεις και ανάλυση**

Σε κάθε χρόνο δειγματοληψίας στο νερό και το ίζημα, θα πρέπει να μετριέται και να αναφέρεται στην έκθεση η συγκέντρωση της ουσίας δοκιμής και των προϊόντων μετατροπής (ως συγκέντρωση και ως ποσοστό της εφαρμοζόμενης). Γενικά, προϊόντα μετατροπής που ανιχνεύονται ως ποσοστό άνω του 10% της εφαρμοζομένης ραδιενέργειας στο σύνολο του συστήματος ύδατος-ιζήματος σε κάθε χρόνο δειγματοληψίας, θα πρέπει να ταυτοποιούνται, εκτός και αν υπάρχει λογική αιτιολόγηση περί του αντιθέτου. Προϊόντα μετατροπής των οποίων οι συγκεντρώσεις αυξάνονται συνεχώς κατά τη διάρκεια της μελέτης, θα πρέπει και αυτά να λαμβάνονται υπ' όψη για ταυτοποίηση, ακόμη και αν οι συγκεντρώσεις τους δεν υπερβαίνουν τα ανωτέρω δοθέντα όρια, καθώς αυτό μπορεί να δείχνει την ύπαρξη ανθεκτικότητας. Τα θέματα αυτά πρέπει να εξετάζονται κατά περίπτωση και στην έκθεση να καταγράφονται οι αντίστοιχες αιτιολογίες.

Για κάθε χρόνο δειγματοληψίας, θα πρέπει να αναφέρονται τα αποτελέσματα από τα συστήματα παγιδεύσεως αερίων/πτητικών ενώσεων (CO_2 και άλλα, δηλ. πτητικές οργανικές ενώσεις). Επίσης, θα πρέπει να αναφέρονται και τα ποσοστά ανοργανοποίησης. Τέλος, θα πρέπει να αναφέρονται για κάθε σημείο δειγματοληψίας τα μη εκχυλίσιμα (δεσμευμένα) υπολείμματα στο ίζημα.

2 **ΔΕΔΟΜΕΝΑ**

2.1 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Σε κάθε χρόνο δειγματοληψίας, πρέπει να υπολογίζεται το συνολικό ισοζύγιο μάζας ή ανάκτηση (βλ. παράγραφος 1.7.1) της προστεθείσας ραδιενέργειας . Τα αποτελέσματα θα πρέπει να αναφέρονται ως ποσοστό της προστεθείσας ραδιενέργειας. Για κάθε χρόνο δειγματοληψίας, θα πρέπει επίσης να αναφέρεται η κατανομή της ραδιενέργειας μεταξύ νερού και ιζήματος ως συγκεντρώσεις και ποσοστά.

Πρέπει να υπολογίζονται ο χρόνος ημιζωής, ο DT_{50} και, αν χρειάζεται, οι DT_{75} και DT_{90} της ουσίας δοκιμής, μαζί με τα όρια εμπιστοσύνης τους (βλ. παράγραφος 1.7.3). Πληροφορίες για την ταχύτητα ανάλωσης της ουσίας δοκιμής στο νερό και το ίζημα μπορούν να ληφθούν με τη χρήση καταλλήλων εργαλείων εκτίμησης. Σε αυτά περιλαμβάνονται η εφαρμογή κινητικής αντιδράσεως ψευδο-πρώτης τάξεως, εμπειρικές τεχνικές προσαρμογής καμπυλών, στις οποίες χρησιμοποιούνται γραφικές ή αριθμητικές λύσεις καθώς και περισσότερο περίπλοκες εκτιμήσεις που χρησιμοποιούν, για παράδειγμα, μοντέλα απλού ή πολλαπλών χώρων (compartment). Περισσότερες λεπτομέρειες μπορεί κανείς να βρεί στην αντίστοιχη δημοσιευμένη βιβλιογραφία (35)(36)(37).

---

[6] Στις περιπτώσεις όπου μπορεί να συμβεί γρήγορη επανοξείδωση των προϊόντων αναεροβίου μετατροπής, οι αναερόβιες συνθήκες πρέπει να διατηρούνται κατά τη διάρκεια του δειγματοληψίας και της αναλύσεως.

Όλες οι προσεγγίσεις έχουν τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματά τους και διαφέρουν σημαντικά από πλευράς πολυπλοκότητας. Η υπόθεση της κινητικής πρώτης τάξεως μπορεί να θεωρηθεί ως υπεραπλούστευση των διαδικασιών αποικοδομήσεως και κατανομής, όμως όπου είναι δυνατή παρέχει έναν όρο (τη σταθερά ταχύτητας ή τον χρόνο ημιζωής), ο οποίος είναι εύκολα κατανοητός και με ιδιαίτερη αξία σε μοντέλα προσομοιώσεως και σε υπολογισμούς προβλεπομένων περιβαλλοντικών συγκεντρώσεων. Οι εμπειρικές προσεγγίσεις ή οι γραμμικοί μετασχηματισμοί μπορεί να οδηγήσουν σε καλύτερα αποτελέσματα από πλευράς προσαρμογής των καμπυλών στα δεδομένα και, κατά συνέπεια, δίνουν μια καλύτερη εκτίμηση του χρόνου ημιζωής, του DT_{50} και, αν χρειάζεται, των DT_{75} και DT_{90}. Η χρήση των παραγώγων σταθερών είναι, ωστόσο, περιορισμένη. Τα μοντέλα χώρου (compartment models) μπορούν να δημιουργήσουν μια σειρά από χρήσιμες σταθερές, σημαντικές στην αξιολόγηση του κινδύνου, που περιγράφουν την ταχύτητα αποικοδομήσεως στους διάφορους χώρους και την κατανομή της χημικής ουσίας. Μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση σταθερών ταχύτητας σχηματισμού και αποικοδομήσεως κυρίων προϊόντων μετατροπής. Σε όλες τις περιπτώσεις, η επιλεγόμενη μέθοδος πρέπει να αιτιολογείται και ο ερευνητής πρέπει να αποδεικνύει γραφικώς ή/και στατιστικώς την καταλληλότητα της προσαρμογής.

3 ΈΚΘΕΣΗ

3.1 ΕΚΘΕΣΗ ΔΟΚΙΜΗΣ

Η έκθεση πρέπει να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:

Ουσία δοκιμής:

— συνήθης ονομασία, χημική ονομασία, αριθμός CAS, συντακτικός τύπος (με υπόδειξη της θέσεως του ή των ιχνηθετών, όταν χρησιμοποιείται ραδιοεπισημασμένο υλικό) και σχετικές φυσικοχημικές ιδιότητες·

— καθαρότητα (προσμείξεις) της ουσίας δοκιμής·

— ραδιοχημική καθαρότητα της επισημασμένης χημικής ουσίας και μοριακή ενεργότητα (όπου αυτό κρίνεται απαραίτητο).

Ουσίες αναφοράς:

— χημική ονομασία και δομή των ουσιών αναφοράς που χρησιμοποιούνται για το χαρακτηρισμό ή/και την ταυτοποίηση των προϊόντων μετατροπής

Δοκιμή ιζημάτων και υδάτων:

— θέση και περιγραφή της ή των τόπων δειγματοληψίας του υδατικού ιζήματος συμπεριλαμβανομένου, αν αυτό είναι δυνατό, και του ιστορικού τυχόν μολύνσεως·

— όλες οι πληροφορίες που σχετίζονται με τη συλλογή, αποθήκευση (αν χρειάστηκε) και εγκλιματισμό των συστημάτων ύδατος-ιζήματος·

— χαρακτηριστικά των δειγμάτων ύδατος-ιζήματος, όπως καθορίζονται στον πίνακα στην παράγραφο 1.8.2.2.

Συνθήκες δοκιμής:

— χρησιμοποιηθέν σύστημα δοκιμής (π.χ. διελεύσεως ροής, βιόμετρο, τρόπος αερισμού, μέθοδος αναδεύσεως, όγκος νερού, μάζα ιζήματος, πάχος στιβάδας ύδατος και ιζήματος, διαστάσεις δοχείων δοκιμής κλπ.)

— εφαρμογή της ουσίας δοκιμής στο σύστημα δοκιμής: χρησιμοποιηθείσα συγκέντρωση δοκιμής, αριθμός επαναληπτικών δειγμάτων και μαρτύρων, τρόπος εφαρμογής της ουσίας δοκιμής (π.χ. τυχόν χρήση διαλύτη), κλπ.

— θερμοκρασία επωάσεως·

— χρόνοι δειγματοληψίας·

— μέθοδοι εκχυλίσεως και αποδόσεις, αναλυτικές μέθοδοι και όρια ανιχνεύσεως·

— μέθοδοι χαρακτηρισμού/ταυτοποιήσεως των προϊόντων μετατροπής·

— αποκλίσεις από το πρωτόκολλο ή τις συνθήκες δοκιμής κατά τη διάρκεια της μελέτης.

Αποτελέσματα:

— ανεπεξέργαστα αριθμητικά δεδομένα αντιπροσωπευτικών αναλύσεων (όλα τα ανεπεξέργαστα δεδομένα πρέπει να φυλάσσονται στο αρχείο ΟΕΠ)·

— επαναληψιμότητα και ευαισθησία των χρησιμοποιούμενων αναλυτικών μεθόδων·

— Ποσοστά ανακτήσεως (% τιμές για μια έγκυρη μελέτη δίνονται στην παράγραφο 1.7.1)·

— πίνακες αποτελεσμάτων εκφραζομένων ως ποσοστό % της εφαρμοζόμενης δόσεως και σε $mg \cdot kg^{-1}$ σε νερό, ίζημα και συνολικό σύστημα (μόνο %) για την ουσία δοκιμής και, αν κρίνεται απαραίτητο, για τα προϊόντα μετατροπής και τη μη εκχυλισθείσα ραδιενέργεια.·

— ισοζύγιο μάζας κατά τη διάρκεια και κατά τη λήξη των μελετών·

— γραφική αναπαράσταση της μετατροπής στα κλάσματα ύδατος και ιζήματος και στο όλο σύστημα (συμπεριλαμβανομένης και της ανοργανοποιήσεως)·

— Ποσοστά ανοργανοποιήσεως·

— χρόνος ημιζωής, DT_{50} και, αν είναι απαραίτητο, DT_{75} και DT_{90} για την ουσία δοκιμής και, όπου είναι απαραίτητο, για κύρια προϊόντα μετασχηματισμού, συμπεριλαμβανομένων και των ορίων εμπιστοσύνης στο νερό, ίζημα και σε όλο το σύστημα·

— εκτίμηση της κινητικής μετατροπής της ουσίας δοκιμής και, όπου είναι απαραίτητο, των κυρίων προϊόντων μετατροπής·

— προτιμώμενη οδός μετατροπής, όπου κρίνεται απαραίτητο·

— συζήτηση των αποτελεσμάτων.

4 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

(1) BBA-Guidelines for the examination of plant protectors in the registration process. (1990). Part IV, Section 5-1: Degradability and fate of plant protectors in the water/sediment system. Germany.

(2) Commission for registration of pesticides: Application for registration of a pesticide. (1991). Part G. Behaviour of the product and its metabolites in soil, water and air, Section G.2.1 (a). The Netherlands.

(3) MAFF Pesticides Safety Directorate. (1992). Preliminary guideline for the conduct of biodegradability tests on pesticides in natural sediment/water systems. Ref No SC 9046. United-Kingdom.

(4) Agriculture Canada: Environmental chemistry and fate. (1987). Guidelines for registration of pesticides in Canada. Aquatic (Laboratory) - Anaerobic and aerobic. Canada. pp 35-37.

(5) US-EPA: Pesticide assessment guidelines, Subdivision N. Chemistry: Environmental fate (1982). Section 162-3, Anaerobic aquatic metabolism.

(6) SETAC-Europe publication. (1995). Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides. Ed. Dr Mark R. Lynch. SETAC-Europe, Brussels.

(7) OECD Test Guidelines Programme. (1995). Final Report of the OECD Workshop on Selection of Soils/sediments, Belgirate, Italy, 18-20 January 1995.

(8) ISO/DIS 5667-12. (1994). Water quality - Sampling - Part 12: Guidance on sampling of bottom sediments.

(9) US-EPA (1998a). Sediment/water microcosm biodegradation test. Harmonised Test Guidelines (OPPTS 835.3180). EPA 712-C-98-080.

(10) DFG: Pesticide Bound Residues in Soil. Wiley-VCH (1998).

(11) T.R. Roberts: Non-extractable pesticide residues in soils and plants. Pure Appl. Chem. 56, 945-956 (IUPAC 1984).

(12) OECD Test Guideline 304A: Inherent Biodegradability in Soil (adopted 12 May 1981).

(13) OECD (1993): Guidelines for Testing of Chemicals. Paris. OECD (1994-2000): Addenda 6-11 to Guidelines for the Testing of Chemicals.

(14) Scholz, K., Fritz R., Anderson C. and Spiteller M. (1988) Degradation of pesticides in an aquatic model ecosystem. BCPC - Pests and Diseases, 3B-4, 149-158.

(15) Guth, J.A. (1981). Experimental approaches to studying the fate of pesticides in soil. In Progress in Pesticide Biochemistry (D.H. Hutson, T.R. Roberts, Eds.), Vol. 1, 85-114. J. Wiley & Sons.

(16) Madsen, T., Kristensen, P. (1997). Effects of bacterial inoculation and non-ionic surfactants on degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. Environ. Toxicol. Chem. 16, 631-637.

(17) Steber, J., Wierich, P. (1987). The anaerobic degradation of detergent range fatty alcohol ethoxylates. Studies with ^{14}C-labelled model surfactants. Water Research 21, 661-667.

(18) Black, C.A. (1965). Methods of Soil Analysis. Agronomy Monograph No. 9. American Society of Agronomy, Madison.

(19) APHA (1989). Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (17th edition). American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation, Washington D.C.

(20) Rowell, D.L. (1994). Soil Science Methods and Applications. Longman.

(21) Light, T.S. (1972). Standard solution for redox potential measurements. Anal. Chemistry 44, 1038-1039.

(22) SETAC-Europe publication (1991). Guidance document on testing procedures for pesticides in freshwater mesocosms. From the Workshop "A Meeting of Experts on Guidelines for Static Field Mesocosms Tests", 3-4 July 1991.

(23) SETAC-Europe publication. (1993). Guidance document on sediment toxicity tests and bioassays for freshwater and marine environments. From the Workshop On Sediment Toxicity Assessment (WOSTA), 8-10 November 1993. Eds.: I.R. Hill, P. Matthiessen and F. Heimbach.

(24) Vink, J.P.M., van der Zee, S.E.A.T.M. (1997). Pesticide biotransformation in surface waters: multivariate analyses of environmental factors at field sites. Water Research 31, 2858-2868.

(25) Vink, J.P.M., Schraa, G., van der Zee, S.E.A.T.M. (1999). Nutrient effects on microbial transformation of pesticides in nitrifying waters. Environ. Toxicol, 329-338.

(26) Anderson, T.H., Domsch, K.H. (1985). Maintenance carbon requirements of actively-metabolising microbial populations under *in-situ* conditions. Soil Biol. Biochem. 17, 197-203.

(27) ISO-14240-2. (1997). Soil quality - Determination of soil microbial biomass - Part 2: Fumigation-extraction method.

(28) Beelen, P. Van and F. Van Keulen. (1990), The Kinetics of the Degradation of Chloroform and Benzene in Anaerobic Sediment from the River Rhine. Hydrobiol. Bull. 24 (1), 13-21.

(29) Shelton, D.R. and Tiedje, J.M. (1984). General method for determining anaerobic biodegradation potential. App. Environ. Microbiol. 47, 850-857.

(30) Birch, R.R., Biver, C., Campagna, R., Gledhill, W.E., Pagga, U., Steber, J., Reust, H. and Bontinck, W.J. (1989). Screening of chemicals for anaerobic biodegradation. Chemosphere 19, 1527-1550.

(31) Pagga, U. and Beimborn, D.B. (1993). Anaerobic biodegradation tests for organic compounds. Chemoshpere 27, 1499-1509.

(32) Nuck, B.A. and Federle, T.W. (1986). A batch test for assessing the mineralisation of ^{14}C-radiolabelled compounds under realistic anaerobic conditions. Environ. Sci. Technol. 30, 3597-3603.

(33) US-EPA (1998b). Anaerobic biodegradability of organic chemicals. Harmonised Test Guidelines (OPPTS 835.3400). EPA 712-C-98-090.

(34) Sijm, Haller and Schrap (1997). Influence of storage on sediment characteristics and drying sediment on sorption coefficients of organic contaminants. Bulletin Environ. Contam. Toxicol. 58, 961-968.

(35) Timme, G., Frehse H. and Laska V. (1986) Statistical interpretation and graphic representation of the degradational behaviour of pesticide residues II. Pflanzenschutz - Nachrichten Bayer, 39, 187 - 203.

(36) Timme, G., Frehse, H. (1980) Statistical interpretation and graphic representation of the degradational behaviour of pesticide residues I. Pflanzenschutz - Nachrichten Bayer, 33, 47 - 60.

(37) Carlton, R.R. and Allen, R. (1994). The use of a compartment model for evaluating the fate of pesticides in sediment/water systems. Brighton Crop Protection Conference - Pest and Diseases, pp 1349-1354.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1

ΚΑΤΕΥΘΥΝΤΗΡΙΑ ΟΔΗΓΙΑ ΓΙΑ ΤΑ ΑΕΡΟΒΙΑ ΚΑΙ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΔΟΚΙΜΗΣ

Αερόβιο σύστημα δοκιμής

Το αερόβιο σύστημα δοκιμής που περιγράφεται στην παρούσα μέθοδο αποτελείται από μια αερόβια στιβάδα ύδατος (συνήθεις συγκεντρώσεις οξυγόνου από 7 έως 10 $mg \cdot l^{-1}$) και στιβάδα ιζήματος, αερόβια στην επιφάνεια και αναερόβια κάτω από την επιφάνεια (σύνηθες μέσο δυναμικό οξειδοαναγωγής (E_h) στην αναερόβια ζώνη του ιζήματος από –80 έως –190 mV). Υγρός αέρας διέρχεται πάνω από την επιφάνεια του νερού σε κάθε μονάδα επωάσεως για να διατηρηθεί επαρκής ποσότητα οξυγόνου στον υπερκείμενο χώρο.

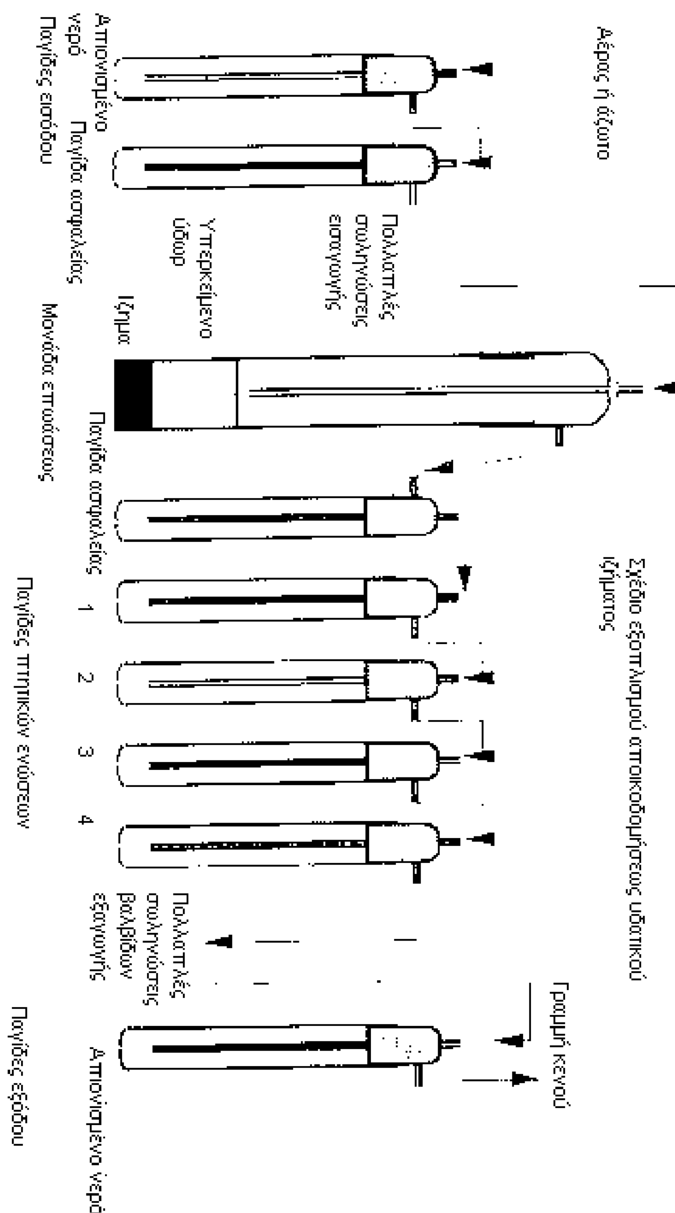
Αναερόβιο σύστημα δοκιμής

Για το αναερόβιο σύστημα δοκιμής η διαδικασία δοκιμής είναι ουσιαστικώς η ίδια με την περιγραφείσα στο αερόβιο σύστημα, εκτός του ότι πάνω από την επιφάνεια του νερού διοχετεύεται ένυγρο αέριο άζωτο, σε κάθε μονάδα επωάσεως, ώστε να διατηρείται υπερκείμενος χώρος πλήρης αζώτου. Το ίζημα και το νερό θεωρούνται ως αναερόβια εφόσον το δυναμικό οξειδοαναγωγής (E_h) είναι μικρότερο από –100 mV.

Στην αναερόβια δοκιμή, η εκτίμηση της ανοργανοποιήσεως συμπεριλαμβάνει και μέτρηση του εκλυόμενου διοξειδίου του άνθρακα και μεθανίου.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2

ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ ΔΙΑΤΑΞΕΩΣ ΔΙΕΛΕΥΣΕΩΣ ΡΟΗΣ



Παγίδα ασφαλείας άδεια

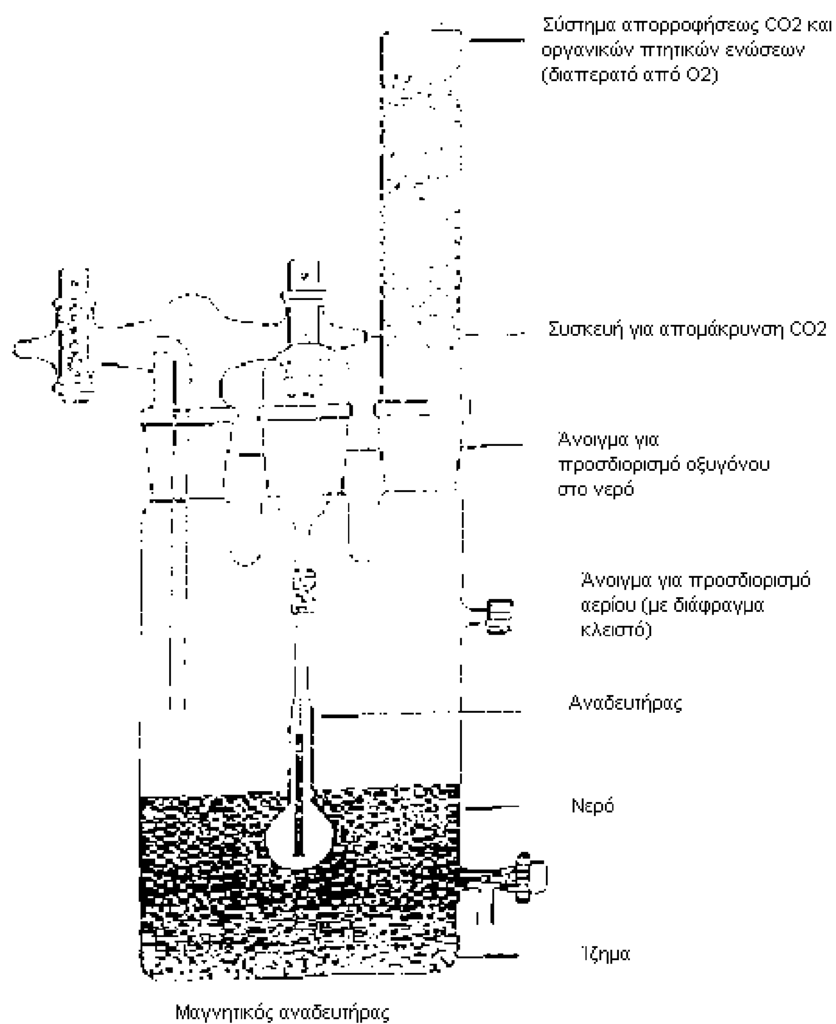
Παγίδα 1:
αιθυλενογλυκόλη για την παγίδευση πτητικών οργανικών ενώσεων

Παγίδα 2:
θειϊκό οξύ 0.1 Μ για την παγίδευση αλκαλικών πτητικών ενώσεων

Παγίδες 3 & 4:
υδροξείδιο του νατρίου 2Μ για την παγίδευση CO_2 και άλλων όξινων πτητικών ενώσεων

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 3

ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ ΔΙΑΤΑΞΕΩΣ ΒΙΟΜΕΤΡΟΥ



ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 4

ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΥ ΔΟΣΕΩΣ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΣΕ ΔΟΧΕΙΑ ΔΟΚΙΜΗΣ

Εσωτερική διάμετρος κυλίνδρου:	= 8 cm
Βάθος στήλης ύδατος μη συμπεριλαμβανομένου του ιζήματος:	= 12 cm
Εμβαδόν επιφανείας: 3.142 x 4^2	= 50.3 cm^2
Ποσοστό εφαρμογής: 500 g ουσίας δοκιμής/ha αντιστοιχεί σε 5 μg/cm^2	
Σύνολο μg: 5 x 50.3	= 251.5 μg
Ρύθμιση ποσότητας σύμφωνα με βάθος 100 cm: 12 x 251.5 ÷ 100	= 30.18 μg
Όγκος στήλης ύδατος: 50.3 x 12	= 603 ml
Συγκέντρωση στο νερό: 30.18 ÷ 603	= 0.050 μg/ml ή 50 μg/l

Ο ΠΡΟΕΔΡΟΣ — Η ΓΡΑΜΜΑΤΕΑΣ

ΝΙΚ. ΧΑΤΣΗΧΡΗΣΤΙΔΗΣ — ΕΛ. ΠΑΛΛΑΡΗ

ΤΑ ΜΕΛΗ: Δ. Μαντέλης, Ν. Κατσίμπας, Α. Παπαθανασίου, Κ. Αυγουστάκης, Γ. Σιαμαντάς, Ι. Γαγλίας.

Η ισχύς της παρούσας απόφασης αρχίζει από τη δημοσίευσή της στην Εφημερίδα της Κυβερνήσεως.
Η απόφαση αυτή να δημοσιευθεί στην Εφημερίδα της Κυβερνήσεως.

Αθήνα, 26 Απριλίου 2005

ΟΙ ΥΠΟΥΡΓΟΙ

ΟΙΚΟΝΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΩΝ
ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΑΛΟΓΟΣΚΟΥΦΗΣ

ΥΦΥΠΟΥΡΓΟΣ
ΟΙΚΟΝΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΩΝ
ΑΔΑΜ ΡΕΓΚΟΥΖΑΣ

ΑΠΟ ΤΟ ΕΘΝΙΚΟ ΤΥΠΟΓΡΑΦΕΙΟ